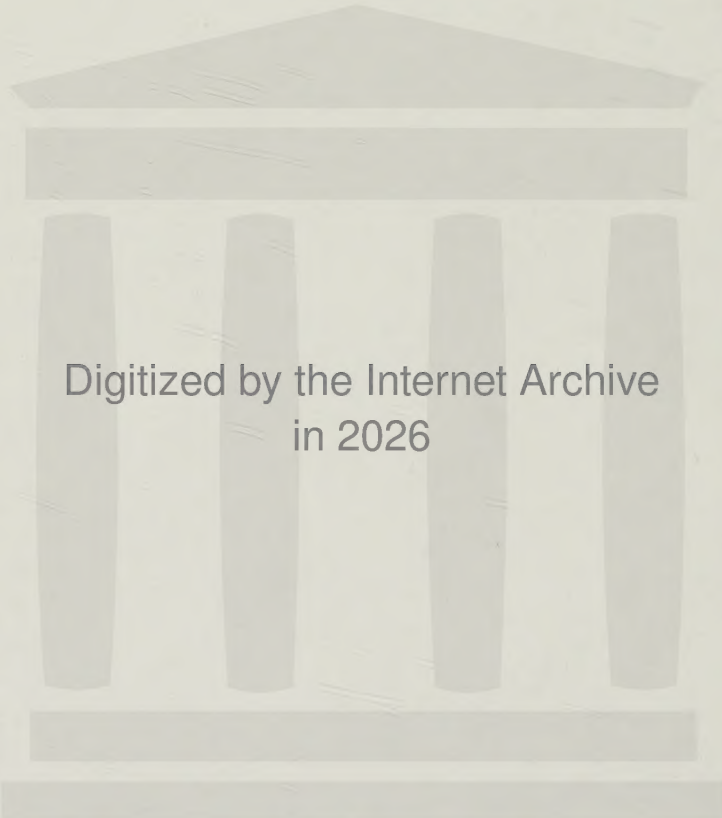


SIDEROPHORE
BEI KLEBSIELLA PNEUMONIAE
UND KLEBSIELLA OXYTOCA
UND IHRE BEDEUTUNG
FÜR DEREN VIRULENZ

Petra Geiger

Disbui. München

1987



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554818_0128

Aus dem Max von Pettenkofer-Institut der Universität München

Leiter: Prof. Dr. F. Deinhardt

angefertigt in der Abteilung

Experimentelle Medizinische Mikrobiologie

unter der Leitung von Prof. Dr. A. Bauernfeind

vorgelegt über

das Institut für Medizinische Mikrobiologie,

Infektions- und Seuchenmedizin der

Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Anton Mayr

SIDEROPHORE

BEI KLEBSIELLA PNEUMONIAE UND KLEBSIELLA OXYTOCA UND IHRE BEDEUTUNG FÜR DEREN VIRULENZ

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde

der Tierärztlichen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Petra Geiger

aus

Todtenweis

München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. A. Mayr

Korreferent: Prof. Dr. D. Giesecke

Tag der Promotion: 24. Juli 1987

Meinen lieben Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

<u>I. EINLEITUNG</u>	1
----------------------	---

<u>II. MATERIAL UND METHODEN</u>	4
----------------------------------	---

<u>1. Material</u>	4
--------------------	---

<u>1.1. Bakterienstämme</u>	4
-----------------------------	---

1.1.1. Klebsiellen aus Blutkultur	4
-----------------------------------	---

1.1.2. Klebsiellen aus Sputum, Urin oder sonstigen Sekreten und Exkreten	7
---	---

1.1.3. Vergleichsstamm Escherichia coli	9
---	---

<u>1.2. Nährböden, Identifizierungssysteme</u>	9
--	---

<u>1.3. Reagenzien</u>	10
------------------------	----

1.3.1. Reagenzien für das Medium 56	10
-------------------------------------	----

1.3.2. Reagenzien für die Siderophornachweise	10
---	----

<u>1.4. Geräte</u>	11
--------------------	----

<u>2. Methoden</u>	12
--------------------	----

<u>2.1. Stammhaltung</u>	12
--------------------------	----

<u>2.2. Herstellung des Flüssigmediums M 56 nach Monod</u>	12
--	----

<u>2.3. Herstellung des Kulturüberstandes</u>	13
---	----

<u>2.4. Siderophornachweise</u>	14
---------------------------------	----

2.4.1. Eisen(III)-chloridtest	14
-------------------------------	----

2.4.2. Hydroxamatnachweis	14
---------------------------	----

2.4.3. Nachweis phenolischer Siderophore	15
--	----

III. ERGEBNISSE

17

1. Wachstum von Klebsiella in Medium 56

17

2. Siderophorproduktion von Klebsiellen in M 56

17

2.1. Zeitliche Relation der Siderophorproduktion

zum Wachstum

17

2.1.1. Hydroxamatproduktion

17

2.1.2. Produktion phenolischer Siderophore

17

2.2. Höhe der Siderophorproduktion der einzelnen

Klebsiellastämme in M 56

18

2.2.1. Ergebnisse des Eisen(III)-chloridtests

18

2.2.2. Ergebnisse des Hydroxamatnachweises

26

2.2.3. Ergebnisse des Nachweises phenolischer

Siderophore

33

2.2.4. Graphische Übersicht der Absorptionen der

einzelnen Klebsiellastämme

43

2.3. Errechnete Absorptionsmittelwerte der unter-

suchten Klebsiellagruppen

43

IV. DISKUSSION

1. Stammauswahl

46

2. Siderophornachweise

46

2.1. Vergleichbarkeit der Absorptionen

46

2.2. Aussagekraft der Nachweise

47

2.2.1. Empfindlichkeit

47

2.2.2. Fehlerquellen im FeCl_3 -Test	48
<u>2.3. Korrelation der Nachweise</u>	48
<u>3. Konstanz der Siderophorproduktion bei den einzelnen Stämmen</u>	49
<u>4. Ergebnisse der Messungen</u>	49
4.1. <u>Vergleich der ersten Kultur mit der zweiten Kultur</u>	49
4.2. <u>Vergleich der Stämme aus Blutkultur mit den Stämmen aus anderen Untersuchungsmaterialien</u>	50
4.3. <u>Zusammenhang zwischen Bakteriozintyp und Siderophorproduktion</u>	51
4.4. <u>Zusammenhang zwischen Kapseltyp und Siderophorproduktion</u>	51
<u>V. ZUSAMMENFASSUNG</u>	53
<u>VI. SUMMARY</u>	54
<u>VII. LITERATURVERZEICHNIS</u>	55
<u>ABBILDUNGEN, TABELLEN</u>	
Abbildung 1	41
Abbildung 2	42

Tabelle 1	19
Tabelle 2	23
Tabelle 3	26
Tabelle 4	31
Tabelle 5	34
Tabelle 6	38
Tabelle 7	43
Tabelle 8	44
Tabelle 9	45

I. EINLEITUNG

Eisen ist essentiell für alle Lebensformen. Obwohl es das viert-häufigste Element ist, schränkt die extrem schlechte Löslichkeit des meist als Eisenhydroxid vorliegenden Elements die Verfügbarkeit erheblich ein (15).

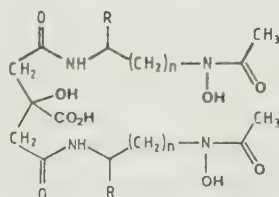
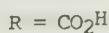
Viele Pflanzen, Pilze und Bakterien haben daher spezielle Mechanismen entwickelt, um das für sie notwendige Eisen aufzunehmen. Sie produzieren niedermolekulare Transportsubstanzen (500-1000 dal), sogenannte "Siderophore", mit einer hohen Affinität zu Eisen(III) (19).

Siderophore sind bisher bei allen aeroben und fakultativ anaeroben Bakterien nachgewiesen. Bei streng anaeroben Bakterien, wie zum Beispiel Clostridien und reinen Milchsäurebakterien, die keine Cytochrome oder eisenhaltige Enzyme besitzen, gibt es nach dem bisherigen Wissensstand keine Siderophore (20).

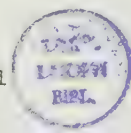
Chemisch können Siderophore in zwei Klassen eingeteilt werden, die Hydroxamate und die phenolischen Siderophore (= Catechole) (10).

Aus der Klasse der Hydroxamate wurde als erstes das Mycobactin von *Mycobakterium paratuberculosis* entdeckt (20). Die Struktur des Mycobactins ist erst 1970 durch Snow (27) ganz aufgeklärt worden. Hydroxamate besitzen als eisenbindende Gruppe die Hydroxamgruppe. Sie haben zu Eisen keine so hohe Affinität wie die Catechole (10). *Klebsiella pneumoniae* produziert das Hydroxamat Aerobactin (9).

Strukturformel des Aerobactins



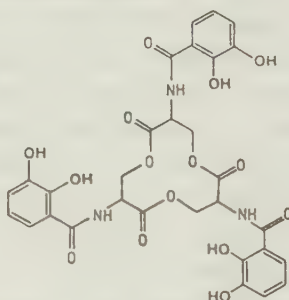
Das von *Klebsiella oxytoca* produzierte Hydroxamat (19) ist noch



nicht identifiziert, doch ist wahrscheinlich, daß es sich auch hier um Aerobactin oder eine sehr ähnliche Verbindung handelt, da dieses Siderophor schon bei *Escherichia coli* und anderen *Enterobacteriaceae* nachgewiesen wurde (9,24).

Als erstes phenolisches Siderophor wurde 1958 das 2,3 Dihydroxybenzoylglycin bei *Bacillus subtilis* beschrieben (12). O'Brien, Cox und Gibson (21,22) entdeckten dann das 2,3 Dihydroxybenzoylserin als phenolisches Siderophor bei *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae*. *Klebsiella oxytoca* sezerniert das 2,3 Dihydroxybenzoylthreonin als Catechol (20). Die Trimere dieser 2,3 Dihydroxybenzoylverbindungen werden allgemein unter der Bezeichnung Enterobactin oder Enterochelin zusammengefaßt.

Die Strukturformel stellt das Trimer von 2,3 Dihydroxybenzoylserin dar.



Das Eisen wird hier durch die deprotonierten OH-Gruppen gebunden. Enterobactin hat die höchste Eisenbindungskonstante aller je gemessenen Eisenkomplexe (10); das heißt, daß Bakterien mit Hilfe dieses Siderophors sogar Proteinen wie Transferrin, Laktotransferrin, Conalbumin und Ovotransferrin Eisen entreißen können.

Allein diese Tatsache brachte Siderophore als mögliche Virulenzfaktoren ins Gespräch. Mehrere Veröffentlichungen (4,5,16,28,30, 33) belegen diesen Zusammenhang.

Normalerweise wird in Körperflüssigkeiten wie Blut und Milch sowie Sekreten Eisen an obengenannte Transportproteine gebunden. Dadurch wird das für die Bakterien zum Wachstum notwendige, freie Eisen entzogen, und eine gewisse Bakteriostase erreicht (4,30). Durch hohe Siderophorproduktion können manche Bakterien diese Bakteriostase aufheben und dadurch virulent wer-

den.

Der genaue Mechanismus, wie die Siderophore dem Transferrin und anderen eisenbindenden Proteinen das Eisen entziehen, ist noch nicht geklärt (14). Sicher ist jedoch, daß beide Siderophorgruppen, die Hydroxamate wie die Catechole, die Virulenz eines Bakteriums durch Aufheben des akuten Eisenmangels erhöhen können. Aerobactin ist bei *Escherichia coli* als ColV-Plasmid kodierter Virulenzfaktor nachgewiesen (3,5,31). Vor kurzem fand Nassif (18) auch bei *Klebsiella pneumoniae* K1 und K2 ein virulenzsteigerndes Plasmid, das Aerobactin kodiert.

Enterochelin ist als Virulenzfaktor bei *Escherichia coli* (14) und *Salmonella typhimurium* (33) gesichert. Zellwandgebundenes Enterobactin ermöglicht zusammen mit dem Lipopolysaccharid die Eisenversorgung eines noch nicht in der Wachstumsphase befindlichen Bakteriums in eisenarmem Medium, denn die Exkretion von Enterobactin beginnt erst mit dem Wachstum. Wird dann auch Enterochelin ins Medium abgegeben, kann sogar eine Infektion mit weniger virulenten Keimen an anderer Stelle begünstigt werden (14).

Überdies dürfen natürlich andere Virulenzfaktoren nicht außer Acht gelassen werden. Die Kapsel in Zusammenhang mit der Phagozytose und den komplementaktivierten Serumfaktoren (26) spielen auch eine wichtige Rolle bei der krankmachenden Wirkung von Klebsiellen.

Klebsiellen als Krankheitserreger stellen zunehmend ein medizinisches Problem dar, da sie immer mehr Resistenzen zeigen (23). An Septikämien sind sie immerhin zu 5,9 % beteiligt (25), und daher sind die Gründe für Virulenzunterschiede bei den verschiedenen Stämmen durchaus von Interesse.

Mit den in dieser Arbeit untersuchten Klebsiellastämmen, die aus Blutkulturen, Sputum oder sonstigen Sekreten und Exkreten isoliert wurden, soll geklärt werden, ob überhaupt ein Unterschied in der Siderophorproduktion einer Spezies besteht, und eventuell ein Zusammenhang zur Virulenz der einzelnen Stämme erkennbar ist.

II. MATERIAL UND METHODEN

1. Material

1.1. Bakterienstämme

1.1.1. Klebsiellen aus Blutkulturen

Die den Stämmen vorangestellten Städtenamen geben die Herkunft an. Sie werden als Abkürzungen weiterhin vor den Stammnummern angegeben. Blutkulturstämme werden allgemein mit BK bezeichnet. Das Zeichen Ø bedeutet "nicht typisierbar".

Die Stämme wurden von der Abteilung bakteriologische Diagnostik, Professor Bauernfeind, Max von Pettenkofer-Institut München, zur Verfügung gestellt.

Die Bestimmung des Serotyps und des Bakteriozintyps erfolgte im obengenannten Haus.

	Stammnummer	Kapselserotyp	Bakteriozintyp
-Berlin (B)			
Kl. pneumoniae	1584	K 9	1 2 3 4 5 6 7
Kl. pneumoniae	1899	K 55	1 3 4 5 6
Kl. pneumoniae	2283	K 3	1 3 4 5 6 8
Kl. pneumoniae	4117	K 2	3 4 5 6
Kl. pneumoniae	4350	K 28	Ø
Kl. pneumoniae	5211	K 11	1 3 4 5
Kl. oxytoca	2054	K 47	1 2 3
Kl. oxytoca	3754	K 47	3 8
Kl. oxytoca	5749	K 47	3 8
Kl. oxytoca	6895	K 47	3 8
Kl. oxytoca	7528	K 47	3 8

	Stammnummer	Kapselserotyp	Bakteriozintyp
-Essen (E)			
Kl. pneumoniae	1820/21	K 7	1 2 3
Kl. pneumoniae	3611	K 15	1
Kl. pneumoniae	3697	K 10/(61)	1 3 4 5 6
Kl. pneumoniae	3816	K 21/26	1 2 3 4 5 6
Kl. pneumoniae	4988	K 3/68	Ø
Kl. pneumoniae	5046	K 11/(21)	1 2 3 4 5 6
Kl. pneumoniae	5329	K 28	8
Kl. oxytoca	3755	K 47	7
Kl. oxytoca	8790	K 47	3 8
-Wiesbaden (Wb)			
Kl. pneumoniae	15457	K 70/72	1 3 4 5 6 7 8
Kl. pneumoniae	15896	K 11/(21)	1 3 4 5 6 7 8
Kl. pneumoniae	17450	K 64	1 3 7 8
Kl. pneumoniae	22507	K 35	1 2 3 4 5 6
Kl. oxytoca	8805	K 47	1 3 4 5 6 8
Kl. oxytoca	14365	K 47	3 8
Kl. oxytoca	25631	K 47	3 8
-Marburg (Mb)			
Kl. pneumoniae	106571	K 12/29/42	1 3 4 5 6
Kl. pneumoniae	112338	K 16	1 3 5 6
Kl. pneumoniae	137006	K 14	1 3 4 5 6
Kl. pneumoniae	171238	K 3/68	1 2 3 4 5 6
Kl. pneumoniae	185538	K 25	1 2 3
Kl. pneumoniae	193017	K 48	1 2 3 4 5 6
Kl. oxytoca	94339	K 47	3 8
Kl. oxytoca	103481	K 47	3 8
Kl. oxytoca	105278	K 47	3 8
Kl. oxytoca	113440	K 47	1 3 8
Kl. oxytoca	912151	K 47	3 8

	Stammnummer	Kapselserotyp	Bakteriozintyp
-Hannover (Ha)			
Kl. pneumoniae	40603	K 22/(37)	1
Kl. pneumoniae	46507	K 3/(68)	3 4 5 6
Kl. oxytoca	28440	K 47	3 8
-Münster (Mi)			
Kl. pneumoniae	B 1324	K 2	1
Kl. pneumoniae	B 1483	K 39	1 2 3 4 5 6 7
Kl. pneumoniae	B 1524	K 21	1 2 3
Kl. oxytoca	B 846	K 47	3 8
Kl. oxytoca	B 1118	K 47	3 8
Kl. oxytoca	B 1184	K 47	3 8
-Bielefeld (Bi)			
Kl. pneumoniae	6720	K 2/30	1 3 4 5 6
Kl. pneumoniae	6751	K 37	1 3 7
Kl. pneumoniae	7265	K 28	2 3
Kl. oxytoca	5433	K 47	3 8
Kl. oxytoca	6525	K 47	3 8
Kl. oxytoca	7016	K 47	3 8
Kl. oxytoca	7476	K 47	1 3
Kl. oxytoca	15416	K 47	Ø
-Hamburg (HH)			
Kl. pneumoniae	3939	K 45	2 3 4 5 6
-Linz (Li)			
Kl. pneumoniae	7570	K 27	1 2 3

	Stammnummer	Kapselserotyp	Bakteriozintyp	
-Kiel (Ki)				
Kl. oxytoca	6532	K 47	3	8
Kl. oxytoca	11601	K 47		8
Kl. oxytoca	31122	K 47	3	8
-Bethel (Be)				
Kl. oxytoca	4693	K 47	3	8
-Freiburg (Fb)				
Kl. oxytoca	9235	K 47	nicht bestimmt	

1.1.2. Klebsiellen aus Sputum, Urin oder sonstigen Sekreten und Exkreten

	Stammnummer	Kapselserotyp	Bakteriozintyp	
Kl. pneumoniae	V. 336	K 26	1 3	
Kl. pneumoniae	V. 338	K 55	2 3 4 5 6	
Kl. pneumoniae	V. 357	K 26	1 3	
Kl. pneumoniae	V. 372	K 11	1 2 3 4 5 6	
Kl. pneumoniae	V. 408	K 37	1 3	8
Kl. pneumoniae	V. 433	K 39	Ø	
Kl. pneumoniae	V. 463	K 25	1	
Kl. pneumoniae	V. 470	K 21	1 2 3 4 5 6	
Kl. pneumoniae	V. 480	K Ø	1 3 4 5 6 7 8	
Kl. pneumoniae	V. 501	K 30	1 3	
Kl. pneumoniae	V. 509	K 68	1 2 3	6 8
Kl. pneumoniae	V. 514	K Ø	1 2 3 4 5 6	

	Stammnummer	Kapselserotyp	Bakteriozintyp
Kl. pneumoniae	V. 516	K 28	Ø
Kl. pneumoniae	V. 536	K Ø	1 3 4 5 6 7 8
Kl. pneumoniae	V. 540	K 30	1 2 3 4 5 6
Kl. pneumoniae	V. 546	K Ø	1 3 4 5 6
Kl. pneumoniae	V. 561	K 47	1 3
Kl. pneumoniae	V. 568	K 7	8
Kl. pneumoniae	V. 575	K 35	8
Kl. pneumoniae	V. 633	K 28	Ø
Kl. pneumoniae	V. 651	K 24	1 3 4 5 6 8
Kl. pneumoniae	V. 653	K 10	3 4 5 6 8
Kl. pneumoniae	V. 659	K 21	1 3 4 5 6 8
Kl. pneumoniae	V. 681	K 39	1 3
Kl. pneumoniae	V. 688	K 14	1 3
Kl. pneumoniae	V. 693	K 61	1 3 4 5 6
Kl. pneumoniae	V. 704	K 30	1 3
Kl. pneumoniae	V. 723	K 24	Ø
Kl. pneumoniae	V. 724	K 55	1 3
Kl. pneumoniae	V. 729	K 64	8
Kl. pneumoniae	V. 740	K 3	1 3
Kl. pneumoniae	V. 754	K 23	Ø
Kl. pneumoniae	V. 755	K 2	4 5 6
Kl. pneumoniae	V. 760	K 27	2 3
Kl. pneumoniae	V. 762	K 25	1 3 4 5 6
Kl. pneumoniae	V. 778	K 47	1 2 3 4 5 6 7
Kl. pneumoniae	V. 784	K 55	3
Kl. oxytoca	V. 434	K 68	1 3 4 5 6 8
Kl. oxytoca	V. 442	K Ø	2 3 4 5 6
Kl. oxytoca	V. 505	K Ø	1 3 4 5 6
Kl. oxytoca	V. 569	K Ø	1 3 4 5 6
Kl. oxytoca	V. 634	K 3	1 3 8
Kl. oxytoca	V. 694	K 61	1 3 4 5 6
Kl. oxytoca	V. 703	K 47	1 3
Kl. oxytoca	V. 708	K 13	3 8

	Stamnummer	Kapselserotyp	Bakteriozintyp			
Kl. oxytoca	V. 761	K 27	1	3	6	
Kl. oxytoca	V. 785	K 47		3	4	5 6 7 8
Kl. oxytoca	V. 848	K 47		3		8
Kl. oxytoca	V.6422/80	K 47		3		8

1.1.3. Vergleichsstamm Escherichia coli

-25922 American Type Culture Collection (ATCC), Rockville, USA

1.2. Nährböden, Identifizierungssysteme

-Frischblutagar, Nährbodenküche des Max von Pettenkofer-Institutes

Zusammensetzung (auf 1000 ml Aqua dest.):

Marokko-Agar	12,5 g
Pepton e carne trypt. "Merck"	25,0 g
Natriumchlorid	3,0 g
Kaliumhydrogenphosphat	2,0 g
Schafblut	70-100 ml

-Müller-Hinton Agar, Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA

Zusammensetzung (38 g/l Aqua dest.):

Rindfleisch, Auszug aus	300,0 g
Bacto-Casamino Säuren	17,5 g
Stärke	1,5 g
Bacto-Agar	17,0 g

-Mac Conkey Agar, Oxoid LTD, Basingstoke, Hants., England

Zusammensetzung (52 g/l Aqua dest.):

Pepton	20,0 g
--------	--------

Lactose	10,0 g
Gallensalze	5,0 g
Natriumchlorid	5,0 g
Neutralrot	0,075 g
Agar Nr.3	12,0 g

-Blut-Base-Agar, Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA

Zusammensetzung (40 g/l Aqua dest.)

Rinderherz, Auszug von	500,0 g
Bacto Tryptose	10,0 g
Natriumchlorid	5,0 g
Bacto Agar	15,0 g

-API 20E = Analytic Profile Index System S.A., für Enterobacteriaceae, Bio Mérieux, Nürtingen

1.3. Reagenzien

1.3.1. Reagenzien für das Medium 56

- Kaliumdihydrogenphosphat zur Analyse (KH_2PO_4), Merck
- Ammoniumsulfat zur Analyse ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), Merck
- Magnesiumsulfat zur Analyse ($\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$), Merck
- Calcium-2-hydrat krist. zur Analyse ($\text{CaCl}_2 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$), Merck
- D(+)-Glucose-Monohydrat ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \times \text{H}_2\text{O}$) für biochemische und mikrobiologische Zwecke, Merck
- Bernsteinsäure zur Analyse ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4$), Merck Darmstadt
- Kalilauge 3 mol/l 3N (KOH), Merck

1.3.2. Reagenzien für die Siderophornachweise

- Eisen(III)-chlorid zur Analyse ($\text{FeCl}_3 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$), Merck
- Perjodsäure krist. zur Analyse (H_5JO_6), Merck

- Glycerin (etwa 87%) reinst ($C_3H_8O_3$), Merck
- Salzsäure 0,5 mol/l 0,5 N Lösung (HCl)
- Natronlauge 1 mol/l 1 N Lösung (NaOH), Merck
- Natriummolybdat-Dihydrat zur Analyse ($Na_2MoO_4 \times 2 H_2O$), Merck
- Natriumnitrit krist. zur Analyse ($NaNO_2$)
- Acetohydroxamsäure 98% , Aldrich, Milwaukee Wis., USA
- Benzohydroxamsäure 99% , Aldrich, Steinheim
- Brenzcatechin p.A., min. 99% (Catechol; 1,2-Dihydroxybenzene; $C_6H_6O_2$), Serva Feinbiochemica, Heidelberg
- Desferal^R (Deferoxaminmesilat) Ciba Geigy, Wehr
- Toluol zur Analyse (C_7H_8), Merck

1.4. Geräte

- Controlled Environment Incubator Shaker,
New Brunswick Scientific Co. Inc.
zur Bebrütung von Bakterienflüssigkulturen bei 37°C geschüttelt
- Corning Colorimeter 252
zur Messung der optischen Dichte (OD) von Bakteriensuspensionen
bei 600 nm
- Labofuge^R GL Haereus Christ
zum Abzentrifugieren von Bakterienflüssigkulturen
- Gilford Spectrophotometer 240 zur Messung der Absorptionen bei
den Siderophortests
- Mettler PR 1200 Analysenwaage
- Vortex-GenieTM-Schüttler
- Millex^R-GS sterilisierende Filtereinheit (Porengröße 0,22 µm),
Millipore^R S.A., Molsheim, Frankreich

2. Methoden

2.1. Stammhaltung

Die Bakterienstämme werden in Reagenzglaschen mit 4 ml Blut-Base-Agar mit einer sterilen Platinnadel eingepflegt. Die Reagenzröhrchen werden über Nacht bei 37°C bebrütet und dann bei 4°C aufbewahrt. Aus diesen Stichen werden dann bei Bedarf mit einer Platinöse Bakterien entnommen und auf Frischblutagar ausgestrichen.

2.2. Herstellung des Flüssigmediums M 56 nach Monod (17)

Der Kolben für das Medium, der Spatel und das Uhrglas zum Abwiegen werden sorgfältig mit Aqua dest. gespült um möglichst wenig Eisen in das Medium einzuschleppen.

Für 1 l Medium werden folgende Mengen eingewogen:

KH_2PO_4	13,60 g
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	2,00 g
MgSO_4	0,02 g
CaCl_2	0,01 g

Eisensulfat wird im Gegensatz zu Monod's Medium nicht zugefügt. Die Reagenzien werden in 850 ml Aqua dest. gelöst, und mit Kalilauge ein pH von 7,4 eingestellt. Das Volumen wird dann auf 900 ml aufgefüllt. Dieses Medium wird bei 121°C und 1 atü 20 min autoklaviert.

Die Glucose (5,0 g/l) wird in 100 ml Aqua dest. gelöst, steril filtriert und dem Medium nachträglich zugegeben. Bei Zugabe der Glucose zum Medium vor der Sterilisation käme es zu einer Bräunungsreaktion. Es würde sich eine Schiff'sche Base zwischen

Ammoniumsulfat und Glucose bilden (20).

Als Kohlenstoffquelle wurde probeweise auch Bernsteinsäure verwendet. Sie kann dem Medium schon vor dem Autoklavieren in gleicher Konzentration wie Glucose zugesetzt werden.

So entsteht ein Minimalmedium mit geringem Eisengehalt.

2.3. Herstellung des Kulturüberstandes

In einen gründlich mit Aqua dest. gespülten, sterilen 100 ml-Schüttelkolben mit angeschweißtem Reagenzröhrchen werden 30 ml Medium 56 (= M 56) gegeben. Der Teststamm wird von einer über Nacht bebrüteten Frischblutplatte in 4 ml M 56 in einem Reagenzglaschen eingerieben. Mit der Bakteriensuspension wird der Schüttelkolben auf eine optische Dichte von 0,05 (entspricht etwa 5×10^7 KB/ml) (gemessen bei 600 nm) angeimpft. Der Kolben wird bei 150 rpm und 37°C 24 h geschüttelt. Danach wird die Enddichte gemessen, und die Bakteriensuspension (= erste Kultur) bei 5000 U/min 15 min lang abzentrifugiert. Zur Absicherung, daß keine Kontamination in der Schüttelkultur vorhanden ist, wird jeweils eine Öse der Bakteriensuspension im Verdünnungsausstrich auf einer Müller-Hinton-Platte und eventuell zusätzlich auf einem Mac-Conkey-Agar ausgestrichen.

Der Überstand wird jetzt sorgfältig abgehoben und portioniert für die einzelnen Siderophornachweise eingefroren. Von jedem Teststamm werden mindestens 2 Kolben an verschiedenen Tagen angezogen, um die Reproduzierbarkeit der unterschiedlich hohen Siderophorproduktion durch die verschiedenen Stämme zu belegen.

Um die Siderophorproduktion bei längerem Eisendefizit zu überprüfen, wurde mit der stationären Bakteriensuspension aus dem ersten Kolben ein zweiter Kolben mit 30 ml M 56 beimpft. Es wird wieder eine optische Dichte (= OD) von 0,05 eingestellt. Die Kultur (= zweite Kultur) wird in der späten logarithmischen Wachstumsphase abzentrifugiert und ebenfalls portioniert eingefroren.

2.4. Siderophornachweise

2.4.1. Eisen(III)-chloridtest (11)

In ein Reagenzglas gibt man folgendes:

Kulturüberstand	100 μ l
FeCl ₃ -Reagenz	900 μ l

Das FeCl₃-Reagenz besteht aus 2 g FeCl₃ in 100 ml 5mmol HCl. Der bei Zugabe von FeCl₃-Reagenz momentan ausfallende weißliche Niederschlag löst sich schnell wieder. Das Reagenzglas wird gut geschüttelt, und die Absorption bei 426 nm nach 10 min gemessen. Als Referenzwert dienen 100 μ l M 56 mit 900 μ l FeCl₃-Reagenz. Als positive Kontrollen dienen Acetohydroxamsäure, Benzohydroxamsäure, Deferoxamin und Catechol. Die vier Substanzen werden als 1,56 mmol Lösungen in Aqua dest. oder in M 56 verwendet (11). Dieser Test dient seiner Einfachheit halber als Schnelltest auf Siderophore vom Hydroxamat- und Catecholtyp (Catechole = phenolische Siderophore). Seine Empfindlichkeit beträgt jedoch nur 1/5 der Sensibilität des Hydroxamatnachweises (siehe unten) (7). Es entsteht ein orangegelber Eisen-Siderophor-Komplex.

2.4.2. Hydroxamatnachweis (11)

Man benötigt:

Kulturüberstand	0,4 ml
H ₅ JO ₆	1,0 ml
H ₂ O dest.	ad 4,0 ml
C ₃ H ₈ O ₃	2 Trpf.

0,4 ml Kulturüberstand werden mit 1,0 ml einer 2,19 mmol Perjod-

säure , 2,6 ml Aqua dest. und 2 Tropfen Glycerin aus einer 1 ml-Pipette versetzt. Die farblose Flüssigkeit wird nach gründlichem Schütteln bei 264 nm gemessen. Als Leerwert dient 0,4 ml M 56 mit den obigen Reagenzien.

Als positive Kontrollen werden 1,56 mmol Lösungen von Acetohydroxamsäure, Benzohydroxamsäure und Deferoxamin in Aqua dest. oder M 56 benutzt.

Perjodsäure oxidiert primäre und sekundäre Hydroxamsäuren zum korrespondierenden cis-Nitrosoalkandimer (7), das ein ultraviolettes Absorptionsmaximum bei 264 nm hat. Das zugefügte Glycerin beseitigt die intensiv absorbierende, überschüssige Perjodsäure (7).

2.4.3. Nachweis phenolischer Siderophore (1)

Es werden folgende Reagenzien in nachstehender Reihenfolge in ein Reagenzglas gegeben:

Kulturüberstand	1,0 ml
HCl 0,5 N	1,0 ml
Nitrit-Molybdat-Reagenz	1,0 ml
NaOH 1 N	1,0 ml
H ₂ O dest.	ad 1,0 ml

Für das Nitrit-Molybdat-Reagenz werden 10,0 g Natriumnitrit und 10,0 g Natriummolybdat in 100 ml Aqua dest. gelöst.

Nach Zugabe eines jeden Reagenz muß gut geschüttelt werden. Im sauren Milieu geben phenolische Siderophore mit dem Nitrit-Molybdat-Reagenz eine gelbe Farbe, die bei Zugabe von NaOH in Kirschrot umschlägt. Diese Färbung wird bei 510 nm gemessen.

Den Referenzwert liefert wiederum M 56 mit obigen Reagenzien.

Als positive Kontrollen dienen Dihydroxybenzoesäure in 1,56 mmol Lösung (in Aqua dest. oder M 56) oder der Catecholstandard nach Arnow. Für diesen wird 192 mg Catechol in 1 Liter Aqua dest.

gelöst. Diese Ausgangslösung kann unter Toluol aufbewahrt werden. Eine Verdünnung dieser Lösung um den Faktor 10 dient dann als Standard. Als negative Kontrollen kann man Acetohydroxamsäure (1,56 mmol) oder Deferoxamin verwenden.

Bei diesem Test reagieren die zugegebenen Reagenzien mit phenolischen OH-Gruppen. Eine einzelne phenolische OH-Gruppe einer Substanz reagiert schwach oder gar nicht mit den Reagenzien, während Substanzen mit zwei oder drei phenolischen OH-Gruppen deutliche Farbreaktionen zeigen (1).

III. E R G E B N I S S E

1. Wachstum von Klebsiella in Medium 56

Klebsiellen aus Blutkultur erreichen in M 56 eine mittlere optische Dichte von 1,76 ($n = 62$) (entspricht etwa $1,75 \times 10^9$ KB/ml). Klebsiellen, die nicht aus Blutkultur stammen, erreichen dagegen eine mittlere $OD_{600\text{ nm}}$ von 1,55 ($n = 49$).

Bei einer zweiten Passage in M 56 erreichen die Klebsiellen zwar dieselbe Enddichte, doch ist das Wachstum verzögert.

2. Siderophorproduktion von Klebsiellen in M 56

2.1. Zeitliche Relation der Siderophorproduktion zum Wachstum

2.1.1. Hydroxamatproduktion

Die Hydroxamatproduktion von Klebsiellen setzt verzögert zum Wachstum logarithmisch ein und beendet die logarithmische Phase mit dem stationär werdenden Wachstum. Sie steigt noch bis ca. 48 h langsam an und bleibt dann gleich.

2.1.2. Produktion phenolischer Siderophore

Auch die Produktion phenolischer Siderophore setzt erst mit etwa zweistündigem Abstand zum Wachstum voll ein. Sie schließt jedoch gleichzeitig mit dem Wachstum ab und bleibt dann stationär.

2.2. Höhe der Siderophorproduktion der einzelnen Klebsiellastämme in M 56

Da die einzelnen Klebsiellastämme unterschiedlich hoch wachsen, müssen die Meßergebnisse der Siderophortests auf eine bestimmte Bakteriendichte bezogen werden um sie vergleichen zu können. Hier werden die Meßwerte auf eine optische Dichte von 1,00 bei 600 nm umgerechnet.

Der Absorptionsmittelwert wurde bei den Stämmen aus Blutkultur aus 6 Meßwerten errechnet ($n = 6$). Bei den übrigen Stämmen wurden mindestens zwei, meist jedoch drei und mehr Meßwerte zur Berechnung des Mittelwertes herangezogen.

Variationskoeffizienten werden nur angegeben, wenn sie Aussagekraft besitzen.

2.2.1. Ergebnisse des Eisen(III)-chloridtests

Die Absorption wird im sichtbaren Bereich bei 426 nm gemessen.

Die positiven Kontrollen ergeben folgende Absorptionen:

Acetohydroxamsäure in Aqua dest.	1,56 mmol	0,484
Acetohydroxamsäure in M 56	1,56 mmol	0,014
Benzohydroxamsäure in Aqua dest.	1,56 mmol	0,503
Benzohydroxamsäure in M 56	1,56 mmol	0,063
Deferoxamin in Aqua dest.	1,56 mmol	0,700
Deferoxamin in M 56	1,56 mmol	0,415
Catechol in Aqua dest.	1,56 mmol	0,489
Catechol in M 56	1,56 mmol	0,252

Tabelle 1: Mittelwerte des Eisen(III)-chloridtests mit dem
Überstand der ersten Kultur in M 56

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.pn.	BK B 1584	0,034	0,024	71 %
Kl.pn.	BK B 1899	0,051	0,022	43 %
Kl.pn.	BK B 2283	0,055	0,034	63 %
Kl.pn.	BK B 4117	0,101	0,147	145 %
Kl.pn.	BK B 4350	0,058	0,031	53 %
Kl.pn.	BK B 5211	0,001	0,003	-
Kl.oxyt.	BK B 2054	0,025	0,006	24 %
Kl.oxyt.	BK B 3754	0,053	0	0 %
Kl.oxyt.	BK B 5749	0,150	0,048	46 %
Kl.oxyt.	BK B 6895	0,032	0,012	38 %
Kl.oxyt.	BK B 7528	0,059	0,004	7 %
Kl.pn.	BK E 1820/21	0,052	0,013	25 %
Kl.pn.	BK E 3611	0,004	0,005	-
Kl.pn.	BK E 3697	0,024	0,026	-
Kl.pn.	BK E 3816	0,048	0,022	46 %
Kl.pn.	BK E 4988	0	0	0 %
Kl.pn.	BK E 5046	0,039	0,008	21 %
Kl.pn.	BK E 5329	0,041	0,011	27 %
Kl.oxyt.	BK E 3755	0,034	0,004	12 %
Kl.oxyt.	BK E 8790	0,120	0,105	88 %
Kl.pn.	BK Wb 15457	0,030	0,026	87 %
Kl.pn.	BK Wb 15896	0,036	0,015	42 %
Kl.pn.	BK Wb 17450	0,027	0,020	74 %
Kl.pn.	BK Wb 22507	0,020	0,022	-
Kl.oxyt.	BK Wb 8805	0,044	0,003	7 %
Kl.oxyt.	BK Wb 14365	0,003	0,001	33 %

Fortsetzung **Tabelle 1:**

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.oxyt. BK Wb	25631	0,075	0,001	1 %
Kl.pn. BK Mb	106571	0	0	0 %
Kl.pn. BK Mb	112338	0,027	0,033	122 %
Kl.pn. BK Mb	137006	0,045	0,028	62 %
Kl.pn. BK Mb	171238	0,045	0,045	100 %
Kl.pn. BK Mb	185538	0,048	0,012	25 %
Kl.pn. BK Mb	193017	0,046	0,017	37 %
Kl.oxyt. BK Mb	94339	0,075	0,011	15 %
Kl.oxyt. BK Mb	103481	0,081	0,005	6 %
Kl.oxyt. BK Mb	105278	0,061	0,001	2 %
Kl.oxyt. BK Mb	113440	0,056	0,001	2 %
Kl.oxyt. BK Mb	912151	0,077	0,002	3 %
Kl.pn. BK Ha	40603	0,032	0,019	59 %
Kl.pn. BK Ha	46507	0,027	0,024	89 %
Kl.oxyt. BK Ha	28440	0,017	0,018	-
Kl.pn. BK Mü B	1324	0,065	0,023	35 %
Kl.pn. BK Mü B	1483	0,028	0,015	54 %
Kl.pn. BK Mü B	1524	0,005	0,009	-
Kl.oxyt. BK Mü B	846	0,023	0,008	35 %
Kl.oxyt. BK Mü B	1118	0,034	0,006	18 %
Kl.oxyt. BK Mü B	1184	0,110	0,039	35 %
Kl.pn. BK Bi	6720	0,015	0,024	-
Kl.pn. BK Bi	6751	0,068	0,013	19 %
Kl.pn. BK Bi	7265	0,010	0,012	-
Kl.oxyt. BK Bi	5433	0,028	0,022	79 %
Kl.oxyt. BK Bi	6525	0,044	0,031	70 %
Kl.oxyt. BK Bi	7016	0,016	0,016	-

Fortsetzung **Tabelle 1:**

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.oxyt. BK Bi	7476	0,057	0,011	19 %
Kl.oxyt. BK Bi	15416	0,072	0,003	4 %
Kl.pn. BK HH	3939	0,005	0,007	-
Kl.pn. BK Li	7570	0,054	0,024	44 %
Kl.oxyt. BK Ki	6532	0,152	0,090	59 %
Kl.oxyt. BK Ki	11601	0,020	0,006	30 %
Kl.oxyt. BK Ki	31122	0,061	0,023	38 %
Kl.oxyt. BK Be	4693	0,048	0,002	4 %
Kl.oxyt. BK Fb	9235	0,004	0,007	-
Kl.pn.	V. 336	0,078	0,004	5 %
Kl.pn.	V. 338	0,083	0,004	5 %
Kl.pn.	V. 357	0,087	0,001	1 %
Kl.pn.	V. 372	0,095	0,013	14 %
Kl.pn.	V. 408	0,057	0,002	4 %
Kl.pn.	V. 433	0,303	0,156	51 %
Kl.pn.	V. 463	0,260	0,141	54 %
Kl.pn.	V. 470	0,271	0,146	54 %
Kl.pn.	V. 480	0,145	0,026	18 %
Kl.pn.	V. 501	0,068	0,013	19 %
Kl.pn.	V. 509	0,043	0,005	12 %
Kl.pn.	V. 514	0,083	0,001	1 %
Kl.pn.	V. 516	0,078	0,013	17 %
Kl.pn.	V. 536	0,117	0,016	14 %
Kl.pn.	V. 540	0,662	0,168	25 %
Kl.pn.	V. 546	0,205	0,101	49 %
Kl.pn.	V. 561	0,087	0,015	17 %
Kl.pn.	V. 568	0,549	0,043	8 %
Kl.pn.	V. 575	0,028	0,005	18 %

Fortsetzung **Tabelle 1:**

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.pn.	V. 633	0,092	0,011	12 %
Kl.pn.	V. 651	0,068	0,014	21 %
Kl.pn.	V. 653	0,060	0,009	15 %
Kl.pn.	V. 659	0,063	0,005	8 %
Kl.pn.	V. 681	0,051	0,004	8 %
Kl.pn.	V. 688	0,037	0,002	5 %
Kl.pn.	V. 693	0,066	0,007	10 %
Kl.pn.	V. 704	0,078	0,004	5 %
Kl.pn.	V. 723	0,087	0,006	7 %
Kl.pn.	V. 724	0,087	0,018	21 %
Kl.pn.	V. 729	0,067	0,005	7 %
Kl.pn.	V. 740	0,095	0,010	11 %
Kl.pn.	V. 754	0,069	0,003	4 %
Kl.pn.	V. 755	0,069	0,003	4 %
Kl.pn.	V. 760	0,080	0,001	1 %
Kl.pn.	V. 762	0,087	0,012	14 %
Kl.pn.	V. 778	0,081	0,002	2 %
Kl.pn.	V. 784	0,092	0,018	20 %
Kl.oxyt.	V. 434	0,031	0,016	52 %
Kl.oxyt.	V. 442	0,075	0,006	8 %
Kl.oxyt.	V. 505	0,028	0,010	36 %
Kl.oxyt.	V. 569	0,055	0,013	24 %
Kl.oxyt.	V. 634	0,034	0,005	15 %
Kl.oxyt.	V. 694	0,039	0,018	46 %
Kl.oxyt.	V. 703	0,042	0,012	29 %
Kl.oxyt.	V. 708	0,062	0,039	63 %
Kl.oxyt.	V. 761	0,059	0,001	2 %

Fortsetzung **Tabelle 1:**

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.oxyt.	V. 785	0,063	0,035	56 %
Kl.oxyt.	V. 848	0,014	0,014	-
Kl.oxyt.	V.6422/80	0,059	0,083	140 %
E. coli	ATCC 25922	0	0	-

Tabelle 2: Mittelwerte des Eisen(III)-chloridtests mit dem
Überstand der zweiten Kultur in M 56

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.pn.	BK B 1584	0,106	0,034	32 %
Kl.pn.	BK B 1899	0,186	0,101	54 %
Kl.pn.	BK B 2283	0,060	0,026	43 %
Kl.pn.	BK B 4117	0,077	0,072	93 %
Kl.pn.	BK B 4350	0,113	0,063	56 %
Kl.pn.	BK B 5211	0,005	0,001	20 %
Kl.oxyt.	BK B 2054	0,067	0,004	6 %
Kl.oxyt.	BK B 3754	0,155	0,003	2 %
Kl.oxyt.	BK B 5749	0,126	0,007	6 %
Kl.oxyt.	BK B 6895	0,047	0,009	19 %
Kl.oxyt.	BK B 7528	0,102	0,007	7 %
Kl.pn.	BK E 1820/21	0,113	0,022	19 %

Fortsetzung **Tabelle 2:**

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.pn.	BK E 3611	0,029	0,032	110 %
Kl.pn.	BK E 3697	0,125	0,033	26 %
Kl.pn.	BK E 3816	0,063	0,020	32 %
Kl.pn.	BK E 4988	0,067	0,039	58 %
Kl.pn.	BK E 5046	0,020	0,016	80 %
Kl.pn.	BK E 5329	0,091	0,049	54 %
Kl.oxyt.	BK E 3755	0,117	0,010	9 %
Kl.oxyt.	BK E 8790	0,110	0,073	66 %
Kl.pn.	BK Wb 15457	0,029	0,035	120 %
Kl.pn.	BK Wb 15896	0,027	0,031	115 %
Kl.pn.	BK Wb 17450	0,141	0,062	44 %
Kl.pn.	BK Wb 22507	0,081	0,034	42 %
Kl.oxyt.	BK Wb 8805	0,139	0,036	26 %
Kl.oxyt.	BK Wb 14365	0,011	0	0 %
Kl.oxyt.	BK Wb 25631	0,129	0,008	6 %
Kl.pn.	BK Mb 106571	0,112	0,010	9 %
Kl.pn.	BK Mb 112338	0,065	0,031	48 %
Kl.pn.	BK Mb 137006	0,120	0,024	20 %
Kl.pn.	BK Mb 171238	0,132	0,049	37 %
Kl.pn.	BK Mb 185538	0,127	0,018	14 %
Kl.pn.	BK Mb 193017	0,099	0,054	55 %
Kl.oxyt.	BK Mb 94339	0,184	0,050	27 %
Kl.oxyt.	BK Mb 103481	0,143	0,002	1 %
Kl.oxyt.	BK Mb 105278	0,167	0,038	23 %
Kl.oxyt.	BK Mb 113440	0,087	0,019	22 %
Kl.oxyt.	BK Mb 912151	0,126	0,002	2 %
Kl.pn.	BK Ha 40603	0,062	0,033	53 %

Fortsetzung **Tabelle 2:**

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.pn.	BK Ha 46507	0,058	0,014	24 %
Kl.oxyt.	BK Ha 28440	0,037	0,004	11 %
Kl.pn.	BK Mü B 1324	0,144	0,044	31 %
Kl.pn.	BK Mü B 1483	0,062	0,021	34 %
Kl.pn.	BK Mü B 1524	0,075	0,061	81 %
Kl.oxyt.	BK Mü B 846	0,090	0,029	32 %
Kl.oxyt.	BK Mü B 1118	0,102	0,008	8 %
Kl.oxyt.	BK Mü B 1184	0,192	0,004	2 %
Kl.pn.	BK Bi 6720	0,030	0,032	107 %
Kl.pn.	BK Bi 6751	0,084	0,017	20 %
Kl.pn.	BK Bi 7265	0,038	0,015	39 %
Kl.oxyt.	BK Bi 5433	0,087	0,025	29 %
Kl.oxyt.	BK Bi 6525	0,056	0,019	34 %
Kl.oxyt.	BK Bi 7016	0,011	0,013	118 %
Kl.oxyt.	BK Bi 7476	0,185	0,008	4 %
Kl.oxyt.	BK Bi 15416	0,056	0,005	9 %
Kl.pn.	BK HH 3939	0,049	0,022	45 %
Kl.pn.	BK Li 7570	0,026	0,014	54 %
Kl.oxyt.	BK Ki 6532	0,136	0,062	46 %
Kl.oxyt.	BK Ki 11601	0,043	0,001	2 %
Kl.oxyt.	BK Ki 31122	0,149	0,056	37 %
Kl.oxyt.	BK Be 4693	0,130	0	0 %
Kl.oxyt.	BK Fb 9235	0,030	0,028	93 %
Kl.oxyt.	V. 848	0,174	0,050	29 %
Kl.oxyt.	V.6422/80	0,080	0,099	123 %
E. coli	ATCC 25922	0	0	0 %

2.2.2. Ergebnisse des Hydroxamatnachweises

Die Absorptionen werden bei 264 nm im ultravioletten Bereich gemessen.

Die positiven Kontrollen haben folgende Meßwerte:

Acetohydroxamsäure in Aqua dest.	1,56 mmol	1,490
Acetohydroxamsäure in M 56	1,56 mmol	0
Benzohydroxamsäure in Aqua dest.	1,56 mmol	1,004
Benzohydroxamsäure in M 56	1,56 mmol	0,092
Deferoxamin in Aqua dest.	1,56 mmol	1,550
Deferoxamin in M 56	1,56 mmol	0,349

Tabelle 3: Mittelwerte des Hydroxamatnachweises im Überstand der ersten Kultur in M 56

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.pn. BK B	1584	0,156	0,015	10 %
Kl.pn. BK B	1899	0,149	0,030	20 %
Kl.pn. BK B	2283	0,132	0,054	41 %
Kl.pn. BK B	4117	0,111	0,085	76 %
Kl.pn. BK B	4350	0,199	0,085	43 %
Kl.pn. BK B	5211	0,134	0,042	31 %
Kl.oxyt. BK B	2054	0,135	0,025	19 %
Kl.oxyt. BK B	3754	0,131	0,040	31 %
Kl.oxyt. BK B	5749	0,150	0,003	2 %

Fortsetzung **Tabelle 3:**

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.oxyt. BK B	6895	0,151	0,004	3 %
Kl.oxyt. BK B	7528	0,182	0,001	1 %
Kl.pn. BK E	1820/21	0,163	0,038	23 %
Kl.pn. BK E	3611	0,126	0,029	23 %
Kl.pn. BK E	3697	0,147	0,039	26 %
Kl.pn. BK E	3816	0,169	0,021	12 %
Kl.pn. BK E	4988	0,155	0,040	26 %
Kl.pn. BK E	5046	0,159	0,057	36 %
Kl.pn. BK E	5329	0,140	0,017	12 %
Kl.oxyt. BK E	3755	0,156	0,016	10 %
Kl.oxyt. BK E	8790	0,080	0,020	25 %
Kl.pn. BK Wb	15457	0,209	0,060	29 %
Kl.pn. BK Wb	15896	0,146	0,034	23 %
Kl.pn. BK Wb	17450	0,149	0,049	33 %
Kl.pn. BK Wb	22507	0,173	0,032	18 %
Kl.oxyt. BK Wb	8805	0,072	0,010	14 %
Kl.oxyt. BK Wb	14365	0,132	0,011	8 %
Kl.oxyt. BK Wb	25631	0,187	0,027	14 %
Kl.pn. BK Mb	106571	0,161	0,043	27 %
Kl.pn. BK Mb	112338	0,160	0,047	29 %
Kl.pn. BK Mb	137006	0,150	0,035	23 %
Kl.pn. BK Mb	171238	0,161	0,071	44 %
Kl.pn. BK Mb	185538	0,164	0,058	35 %
Kl.pn. BK Mb	193017	0,131	0,038	29 %
Kl.oxyt. BK Mb	94339	0,200	0,033	17 %
Kl.oxyt. BK Mb	103481	0,172	0,049	28 %
Kl.oxyt. BK Mb	105278	0,164	0,012	7 %

Fortsetzung **Tabelle 3:**

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.oxyt. BK Mb	113440	0,135	0,024	18 %
Kl.oxyt. BK Mb	912151	0,182	0,016	9 %
Kl.pn. BK Ha	40603	0,231	0,026	11 %
Kl.pn. BK Ha	46507	0,162	0,034	21 %
Kl.oxyt. BK Ha	28440	0,143	0,040	30 %
Kl.pn. BK Mü B	1324	0,149	0,044	30 %
Kl.pn. BK Mü B	1483	0,095	0,019	20 %
Kl.pn. BK Mü B	1524	0,194	0,097	50 %
Kl.oxyt. BK Mü B	846	0,136	0,019	14 %
Kl.oxyt. BK Mü B	1118	0,164	0,025	15 %
Kl.oxyt. BK Mü B	1184	0,173	0,011	6 %
Kl.pn. BK Bi	6720	0,189	0,029	15 %
Kl.pn. BK Bi	6751	0,122	0,024	20 %
Kl.pn. BK Bi	7265	0,176	0,036	20 %
Kl.oxyt. BK Bi	5433	0,144	0,026	18 %
Kl.oxyt. BK Bi	6525	0,114	0,010	9 %
Kl.oxyt. BK Bi	7016	0,140	0,025	18 %
Kl.oxyt. BK Bi	7476	0,167	0,028	17 %
Kl.oxyt. BK Bi	15416	0,185	0,046	25 %
Kl.pn. BK HH	3939	0,164	0,021	13 %
Kl.pn. BK Li	7570	0,159	0,026	16 %
Kl.oxyt. BK Ki	6532	0,183	0,062	34 %
Kl.oxyt. BK Ki	11601	0,135	0,001	1 %
Kl.oxyt. BK Ki	31122	0,184	0,036	19 %
Kl.oxyt. BK Be	4693	0,156	0,012	8 %
Kl.oxyt. BK Fb	9235	0,143	0,020	14 %
Kl.pn.	V. 336	0,306	0,055	18 %

Fortsetzung **Tabelle 3:**

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.pn.	V. 338	0,273	0,021	8 %
Kl.pn.	V. 357	0,329	0,004	1 %
Kl.pn.	V. 372	0,319	0,020	6 %
Kl.pn.	V. 408	0,211	0,020	9 %
Kl.pn.	V. 433	0,253	0,088	35 %
Kl.pn.	V. 463	0,200	0,113	57 %
Kl.pn.	V. 470	0,165	0,015	9 %
Kl.pn.	V. 480	0,138	0,007	5 %
Kl.pn.	V. 501	0,212	0,006	3 %
Kl.pn.	V. 509	0,167	0,008	5 %
Kl.pn.	V. 514	0,236	0,028	12 %
Kl.pn.	V. 516	0,245	0,040	16 %
Kl.pn.	V. 536	0,206	0,017	8 %
Kl.pn.	V. 540	0,413	0,006	1 %
Kl.pn.	V. 546	0,172	0,082	48 %
Kl.pn.	V. 561	0,186	0,032	17 %
Kl.pn.	V. 568	0,195	0,087	45 %
Kl.pn.	V. 575	0,228	0,008	4 %
Kl.pn.	V. 633	0,289	0,006	2 %
Kl.pn.	V. 651	0,196	0,002	1 %
Kl.pn.	V. 653	0,241	0,044	18 %
Kl.pn.	V. 659	0,186	0,016	9 %
Kl.pn.	V. 681	0,189	0,013	7 %
Kl.pn.	V. 688	0,192	0,032	17 %
Kl.pn.	V. 693	0,302	0,059	20 %
Kl.pn.	V. 704	0,199	0,008	4 %
Kl.pn.	V. 723	0,277	0,022	8 %

Fortsetzung Tabelle 3:

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.pn.	V. 724	0,219	0,023	11 %
Kl.pn.	V. 729	0,212	0,067	32 %
Kl.pn.	V. 740	0,298	0,018	6 %
Kl.pn.	V. 754	0,216	0,018	8 %
Kl.pn.	V. 755	0,246	0,020	8 %
Kl.pn.	V. 760	0,231	0,040	17 %
Kl.pn.	V. 762	0,304	0,011	4 %
Kl.pn.	V. 778	0,218	0,001	0 %
Kl.pn.	V. 784	0,216	0,052	24 %
Kl.oxyt.	V. 434	0,120	0,031	26 %
Kl.oxyt.	V. 442	0,122	0,038	31 %
Kl.oxyt.	V. 505	0,194	0,054	28 %
Kl.oxyt.	V. 569	0,167	0,009	5 %
Kl.oxyt.	V. 634	0,196	0,080	41 %
Kl.oxyt.	V. 694	0,132	0,018	14 %
Kl.oxyt.	V. 703	0,119	0,013	11 %
Kl.oxyt.	V. 708	0,262	0,016	6 %
Kl.oxyt.	V. 761	0,172	0,021	12 %
Kl.oxyt.	V. 785	0,123	0,015	12 %
Kl.oxyt.	V. 848	0,110	0,024	22 %
Kl.oxyt.	V. 6422/80	0,257	0,097	38 %
E.coli	ATCC 25922	0,109	0,010	9 %

Tabelle 4: Mittelwerte des Hydroxamatnachweises im Überstand der zweiten Kultur in M 56

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.pn.	BK B 1584	0,190	0,058	31 %
Kl.pn.	BK B 1899	0,125	0,029	23 %
Kl.pn.	BK B 2283	0,110	0,036	33 %
Kl.pn.	BK B 4117	0,191	0,036	19 %
Kl.pn.	BK B 4350	0,140	0,014	10 %
Kl.pn.	BK B 5211	0,148	0,063	42 %
Kl.oxyt.	BK B 2054	0,078	0,007	9 %
Kl.oxyt.	BK B 3754	0,138	0,008	6 %
Kl.oxyt.	BK B 5749	0,081	0,014	17 %
Kl.oxyt.	BK B 6895	0,050	0,006	12 %
Kl.oxyt.	BK B 7528	0,101	0,012	12 %
Kl.pn.	BK E 1820/21	0,144	0,018	13 %
Kl.pn.	BK E 3611	0,143	0,021	14 %
Kl.pn.	BK E 3697	0,201	0,018	9 %
Kl.pn.	BK E 3816	0,171	0,053	31 %
Kl.pn.	BK E 4988	0,144	0,019	13 %
Kl.pn.	BK E 5046	0,041	0,008	20 %
Kl.pn.	BK E 5329	0,099	0,011	11 %
Kl.oxyt.	BK E 3755	0,076	0,008	10 %
Kl.oxyt.	BK E 8790	0,139	0,058	42 %
Kl.pn.	BK Wb 15457	0,173	0,048	28 %
Kl.pn.	BK Wb 15896	0,075	0,011	15 %
Kl.pn.	BK Wb 17450	0,173	0,036	21 %
Kl.pn.	BK Wb 22507	0,126	0,067	53 %
Kl.oxyt.	BK Wb 8805	0,090	0,002	2 %
Kl.oxyt.	BK Wb 14365	0,041	0,001	2 %

Fortsetzung **Tabelle 4:**

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.oxyt. BK Wb	25631	0,063	0,003	5 %
Kl.pn. BK Mb	106571	0,116	0,019	16 %
Kl.pn. BK Mb	112338	0,154	0,017	11 %
Kl.pn. BK Mb	137006	0,206	0,020	10 %
Kl.pn. BK Mb	171238	0,148	0,029	19 %
Kl.pn. BK Mb	185538	0,151	0,030	20 %
Kl.pn. BK Mb	193017	0,108	0,040	37 %
Kl.oxyt. BK Mb	94339	0,107	0,047	44 %
Kl.oxyt. BK Mb	103481	0,089	0,019	21 %
Kl.oxyt. BK Mb	105278	0,086	0,003	3 %
Kl.oxyt. BK Mb	113440	0,107	0,100	93 %
Kl.oxyt. BK Mb	912151	0,138	0,018	13 %
Kl.pn. BK Ha	40603	0,244	0,026	10 %
Kl.pn. BK Ha	46507	0,169	0,017	10 %
Kl.oxyt. BK Ha	28440	0,033	0,003	9 %
Kl.pn. BK Mü B	1324	0,076	0,024	32 %
Kl.pn. BK Mü B	1483	0,031	0,023	74 %
Kl.pn. BK Mü B	1524	0,199	0,085	43 %
Kl.oxyt. BK Mü B	846	0,062	0,001	2 %
Kl.oxyt. BK Mü B	1118	0,070	0,009	13 %
Kl.oxyt. BK Mü B	1184	0,080	0,010	13 %
Kl.pn. BK Bi	6720	0,170	0,030	18 %
Kl.pn. BK Bi	6751	0,066	0,021	32 %
Kl.pn. BK Bi	7265	0,117	0,023	20 %
Kl.oxyt. BK Bi	5433	0,140	0,036	26 %
Kl.oxyt. BK Bi	6525	0,055	0,019	35 %
Kl.oxyt. BK Bi	7016	0,072	0,017	24 %

Fortsetzung **Tabelle 4:**

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.oxyt. BK Bi	7476	0,100	0,031	31 %
Kl.oxyt. BK Bi	15416	0,252	0,013	5 %
Kl.pn. BK HH	3939	0,130	0,033	25 %
Kl.pn. BK Li	7570	0,058	0,015	26 %
Kl.oxyt. BK Ki	6532	0,141	0,027	19 %
Kl.oxyt. BK Ki	11601	0,052	0	0 %
Kl.oxyt. BK Ki	31122	0,170	0,062	36 %
Kl.oxyt. BK Be	4693	0,139	0,045	32 %
Kl.oxyt. BK Fb	9235	0,142	0,020	14 %
Kl.oxyt.	V. 848	0,157	0,077	49 %
Kl.oxyt.	V.6422/80	0,173	0,050	29 %
E. coli	ATCC 25922	0,030	0,016	40 %

2.2.3. Ergebnisse des Nachweises phenolischer Siderophore

Die Absorptionen dieses Nachweises werden bei 510 nm im sichtbaren Bereich gemessen.

Die Messung der positiven Kontrollen ergab folgende Absorptionen:

Catechol in Aqua dest.	1,56 mmol	2,179
Catechol in M56	1,56 mmol	2,272
Catechol als Standard nach Arnow	19,2 mg/l	0,328

Tabelle 5: Mittelwerte des Nachweises phenolischer Siderophore im
Überstand der ersten Kultur in M 56

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.pn.	BK B 1584	0,245	0,024	10 %
Kl.pn.	BK B 1899	0,227	0,024	11 %
Kl.pn.	BK B 2283	0,048	0,034	71 %
Kl.pn.	BK B 4117	0,061	0,039	64 %
Kl.pn.	BK B 4350	0,320	0,176	55 %
Kl.pn.	BK B 5211	0,130	0,081	62 %
Kl.oxyt.	BK B 2054	0,268	0,028	10 %
Kl.oxyt.	BK B 3754	0,309	0,044	14 %
Kl.oxyt.	BK B 5749	0,277	0,021	8 %
Kl.oxyt.	BK B 6895	0,337	0,006	2 %
Kl.oxyt.	BK B 7528	0,321	0,024	7 %
Kl.pn.	BK E 1820/21	0,188	0,032	17 %
Kl.pn.	BK E 3611	0,135	0,073	54 %
Kl.pn.	BK E 3697	0,100	0,128	128 %
Kl.pn.	BK E 3816	0,154	0,067	44 %
Kl.pn.	BK E 4988	0,151	0,060	40 %
Kl.pn.	BK E 5046	0	0	0 %
Kl.pn.	BK E 5329	0,219	0,023	11 %
Kl.oxyt.	BK E 3755	0,229	0,018	8 %
Kl.oxyt.	BK E 8790	0,064	0,044	69 %
Kl.pn.	BK Wb 15457	0,178	0,106	59 %
Kl.pn.	BK Wb 15896	0,012	0,007	58 %
Kl.pn.	BK Wb 17450	0,162	0,112	69 %
Kl.pn.	BK Wb 22507	0,134	0,125	93 %
Kl.oxyt.	BK Wb 8805	0,144	0,024	17 %
Kl.oxyt.	BK Wb 14365	0,283	0,031	11 %

Fortsetzung **Tabelle 5:**

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.oxyt. BK Wb	25631	0,312	0,006	2 %
Kl.pn. BK Mb	106571	0,178	0,030	17 %
Kl.pn. BK Mb	112338	0,161	0,123	76 %
Kl.pn. BK Mb	137006	0,100	0,105	105 %
Kl.pn. BK Mb	171238	0,111	0,109	98 %
Kl.pn. BK Mb	185538	0,204	0,049	24 %
Kl.pn. BK Mb	193017	0,191	0,031	16 %
Kl.oxyt. BK Mb	94339	0,174	0,015	9 %
Kl.oxyt. BK Mb	103481	0,288	0,055	19 %
Kl.oxyt. BK Mb	105278	0,344	0,051	15 %
Kl.oxyt. BK Mb	113440	0,258	0,008	3 %
Kl.oxyt. BK Mb	912151	0,314	0,022	7 %
Kl.pn. BK Ha	40603	0,235	0,079	34 %
Kl.pn. BK Ha	46507	0,163	0,084	51 %
Kl.oxyt. BK Ha	28440	0,293	0,022	8 %
Kl.pn. BK Mü B	1324	0,028	0,015	54 %
Kl.pn. BK Mü B	1483	0,019	0,005	26 %
Kl.pn. BK Mü B	1524	0,116	0,102	88 %
Kl.oxyt. BK Mü B	846	0,188	0,026	14 %
Kl.oxyt. BK Mü B	1118	0,233	0,009	4 %
Kl.oxyt. BK Mü B	1184	0,281	0,027	10 %
Kl.pn. BK Bi	6720	0,281	0,103	37 %
Kl.pn. BK Bi	6751	0,014	0,006	43 %
Kl.pn. BK Bi	7265	0,147	0,046	31 %
Kl.oxyt. BK Bi	5433	0,139	0,037	27 %
Kl.oxyt. BK Bi	6525	0,228	0,011	5 %
Kl.oxyt. BK Bi	7016	0,222	0,068	31 %

Fortsetzung **Tabelle 5:**

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.oxyt. BK Bi	7476	0,257	0,019	7 %
Kl.oxyt. BK Bi	15416	0,261	0,037	14 %
Kl.pn. BK HH	3939	0,190	0,032	17 %
Kl.pn. BK Li	7570	0	0	0 %
Kl.oxyt. BK Ki	6532	0,219	0,064	29 %
Kl.oxyt. BK Ki	11601	0,282	0,015	5 %
Kl.oxyt. BK Ki	31122	0,219	0,035	16 %
Kl.oxyt. BK Be	4693	0,292	0,029	10 %
Kl.oxyt. BK Fb	9235	0,232	0,036	16 %
Kl.pn.	V. 336	0,398	0,001	0 %
Kl.pn.	V. 338	0,337	0,112	33 %
Kl.pn.	V. 357	0,499	0,075	15 %
Kl.pn.	V. 372	0,421	0,036	9 %
Kl.pn.	V. 408	0,242	0,030	12 %
Kl.pn.	V. 433	0,097	0,028	29 %
Kl.pn.	V. 463	0,074	0,009	12 %
Kl.pn.	V. 470	0,068	0,015	22 %
Kl.pn.	V. 480	0,095	0,021	22 %
Kl.pn.	V. 501	0,226	0,009	4 %
Kl.pn.	V. 509	0,216	0,001	0 %
Kl.pn.	V. 514	0,275	0,032	12 %
Kl.pn.	V. 516	0,299	0,062	21 %
Kl.pn.	V. 536	0,246	0,040	16 %
Kl.pn.	V. 540	0,177	0,082	46 %
Kl.pn.	V. 546	0,106	0,033	31 %
Kl.pn.	V. 561	0,235	0,018	8 %
Kl.pn.	V. 568	0,047	0,023	49 %

Fortsetzung **Tabelle 5:**

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.pn.	V. 575	0,217	0,019	9 %
Kl.pn.	V. 633	0,421	0,085	20 %
Kl.pn.	V. 651	0,313	0,059	19 %
Kl.pn.	V. 653	0,416	0,018	4 %
Kl.pn.	V. 659	0,256	0,023	9 %
Kl.pn.	V. 681	0,243	0,013	5 %
Kl.pn.	V. 688	0,242	0,004	2 %
Kl.pn.	V. 693	0,403	0,046	11 %
Kl.pn.	V. 704	0,259	0,040	15 %
Kl.pn.	V. 723	0,412	0,030	7 %
Kl.pn.	V. 724	0,317	0,024	8 %
Kl.pn.	V. 729	0,266	0,058	22 %
Kl.pn.	V. 740	0,364	0,068	19 %
Kl.pn.	V. 754	0,252	0,012	5 %
Kl.pn.	V. 755	0,280	0,023	8 %
Kl.pn.	V. 760	0,301	0,070	23 %
Kl.pn.	V. 762	0,458	0,011	2 %
Kl.pn.	V. 778	0,313	0,021	7 %
Kl.pn.	V. 784	0,392	0,047	12 %
Kl.oxyt.	V. 434	0,118	0,011	9 %
Kl.oxyt.	V. 442	0,124	0,054	44 %
Kl.oxyt.	V. 505	0,185	0,034	18 %
Kl.oxyt.	V. 569	0,233	0,008	3 %
Kl.oxyt.	V. 634	0,100	0,006	6 %
Kl.oxyt.	V. 694	0,173	0,018	10 %
Kl.oxyt.	V. 703	0,176	0,008	5 %
Kl.oxyt.	V. 708	0,194	0,009	5 %

Fortsetzung **Tabelle 5:**

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.oxyt.	V. 761	0,237	0,020	8 %
Kl.oxyt.	V. 785	0,182	0,032	18 %
Kl.oxyt.	V. 848	0,112	0,048	43 %
Kl.oxyt.	V.6422/80	0,125	0,103	82 %
E. coli	ATCC 25922	0,079	0,049	62 %

Tabelle 6: Mittelwerte des Nachweises phenolischer Siderophore im Überstand der zweiten Kultur in M 56

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.pn. BK B	1584	0,399	0,062	16 %
Kl.pn. BK B	1899	0,241	0,041	17 %
Kl.pn. BK B	2283	0,046	0,028	61 %
Kl.pn. BK B	4117	0,250	0,073	29 %
Kl.pn. BK B	4350	0,281	0,033	12 %
Kl.pn. BK B	5211	0,203	0,085	4 %
Kl.oxyt. BK B	2054	0,137	0,023	17 %
Kl.oxyt. BK B	3754	0,338	0,011	3 %
Kl.oxyt. BK B	5749	0,215	0,016	7 %
Kl.oxyt. BK B	6895	0,155	0,023	15 %
Kl.oxyt. BK B	7528	0,262	0,044	17 %

Fortsetzung **Tabelle 6:**

Stamm	Nummer	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.pn.	BK E 1820/21	0,256	0,072	28 %
Kl.pn.	BK E 3611	0,188	0,008	4 %
Kl.pn.	BK E 3697	0,332	0,051	15 %
Kl.pn.	BK E 3816	0,267	0,086	32 %
Kl.pn.	BK E 4988	0,205	0,023	11 %
Kl.pn.	BK E 5046	0	0	0 %
Kl.pn.	BK E 5329	0,272	0,043	16 %
Kl.oxyt.	BK E 3755	0,156	0,011	7 %
Kl.oxyt.	BK E 8790	0,186	0,106	57 %
Kl.pn.	BK Wb 15457	0,182	0,069	38 %
Kl.pn.	BK Wb 15896	0	0	0 %
Kl.pn.	BK Wb 17450	0,283	0,063	22 %
Kl.pn.	BK Wb 22507	0,290	0,033	11 %
Kl.oxyt.	BK Wb 8805	0,122	0,013	11 %
Kl.oxyt.	BK Wb 14365	0,163	0,021	13 %
Kl.oxyt.	BK Wb 25631	0,134	0,016	12 %
Kl.pn.	BK Mb 106571	0,183	0,019	10 %
Kl.pn.	BK Mb 112338	0,276	0,100	36 %
Kl.pn.	BK Mb 137006	0,324	0,054	17 %
Kl.pn.	BK Mb 171238	0,111	0,052	47 %
Kl.pn.	BK Mb 185538	0,259	0,064	25 %
Kl.pn.	BK Mb 193017	0,211	0,047	22 %
Kl.oxyt.	BK Mb 94339	0,086	0,049	57 %
Kl.oxyt.	BK Mb 103481	0,248	0,030	12 %
Kl.oxyt.	BK Mb 105278	0,245	0,021	9 %
Kl.oxyt.	BK Mb 113440	0,205	0,190	93 %
Kl.oxyt.	BK Mb 912151	0,297	0,068	23 %

Fortsetzung Tabelle 6:

Stamm Nummer			Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Variations- koeffizient
Kl.pn.	BK Ha	40603	0,344	0,033	9 %
Kl.pn.	BK Ha	46507	0,195	0,073	37 %
Kl.oxyt.	BK Ha	28440	0,156	0,001	1 %
Kl.pn.	BK Mü B	1324	0,035	0,036	103 %
Kl.pn.	BK Mü B	1483	0,015	0,008	53 %
Kl.pn.	BK Mü B	1524	0,272	0,140	51 %
Kl.oxyt.	BK Mü B	846	0,119	0,009	8 %
Kl.oxyt.	BK Mü B	1118	0,151	0,011	7 %
Kl.oxyt.	BK Mü B	1184	0,220	0,048	22 %
Kl.pn.	BK Bi	6720	0,304	0,055	18 %
Kl.pn.	BK Bi	6751	0,001	0,001	-
Kl.pn.	BK Bi	7265	0,126	0,052	41 %
Kl.oxyt.	BK Bi	5433	0,269	0,045	17 %
Kl.oxyt.	BK Bi	6525	0,200	0,008	4 %
Kl.oxyt.	BK Bi	7016	0,161	0,072	45 %
Kl.oxyt.	BK Bi	7476	0,131	0,076	58 %
Kl.oxyt.	BK Bi	15416	0,420	0	0 %
Kl.pn.	BK HH	3939	0,188	0,058	31 %
Kl.pn.	BK Li	7570	0	0	0 %
Kl.oxyt.	BK Ki	6532	0,178	0,040	22 %
Kl.oxyt.	BK Ki	11601	0,163	0,034	21 %
Kl.oxyt.	BK Ki	31122	0,368	0,127	34 %
Kl.oxyt.	BK Be	4693	0,309	0,036	12 %
Kl.oxyt.	BK Fb	9235	0,228	0,026	11 %
Kl.oxyt.	V.	848	0,144	0,039	27 %
Kl.oxyt.	V.	6422/80	0,134	0,031	23 %
E. coli	ATCC	25922	0,041	0,012	29 %

Abbildung 1: Absorptionsmitttelwerte aus der ersten Kultur

- Klebsiella pneumoniae aus Blutkultur
- ▲ Klebsiella oxytoca aus Blutkultur

Die Stammnummer wird in der Reihenfolge von Tabelle 1 zugeteilt; zuerst werden alle Klebsiella pneumoniae, dann alle Klebsiella oxytoca von Anfang an durchnummeriert.

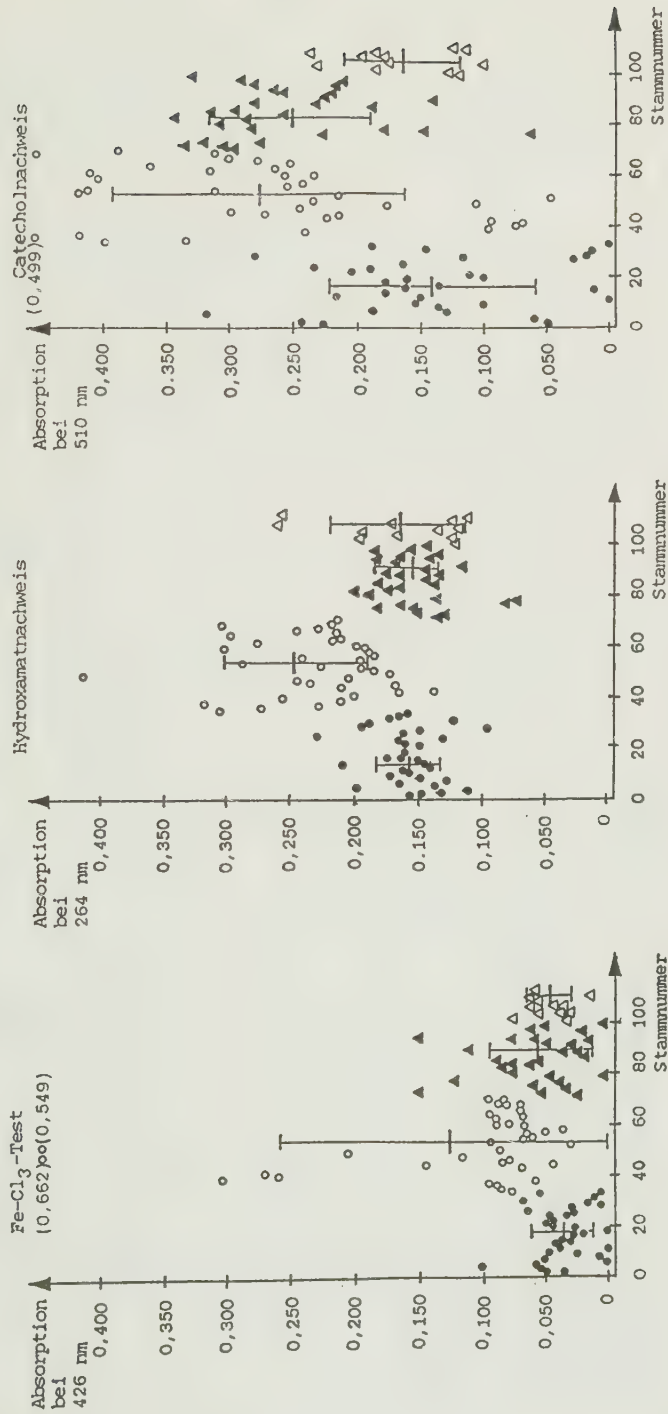
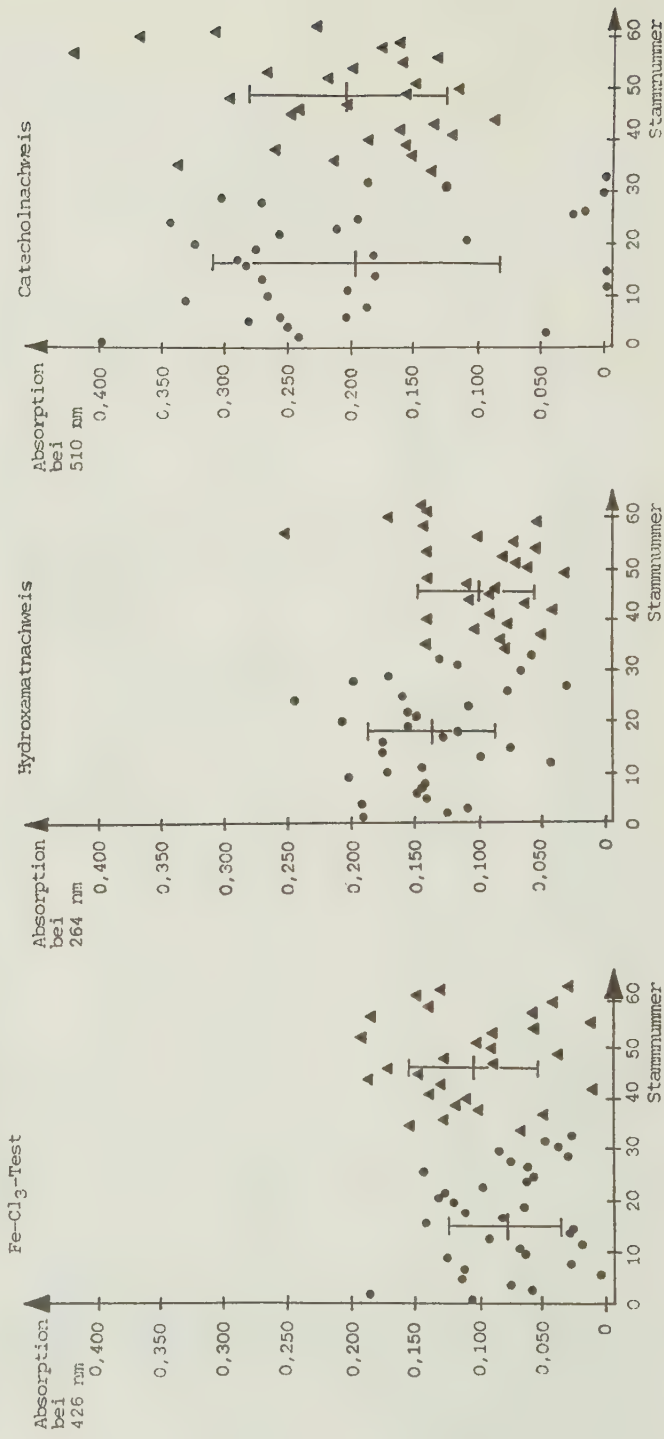


Abbildung 2: Absorptionsmittelwerte aus der zweiten Kultur

- *Klebsiella pneumoniae* aus Blutkultur
- ▲ *Klebsiella oxytoca* aus Blutkultur

Die Stammmummer wird in der Reihenfolge von Tabelle 1 zugeteilt; zuerst werden alle *Klebsiella pneumoniae*, dann alle *Klebsiella oxytoca* von Anfang an durchnummeriert.



2.2.4. Graphische Übersicht der Absorptionen der einzelnen
Klebsiellastämme
Siehe Abbildung 1 und 2.

2.3. Errechnete Absorptionsmittelwerte der untersuchten Klebsiellagruppen

Es werden alle *Klebsiella pneumoniae* aus Blutkultur, *Klebsiella oxytoca* aus Blutkultur, sowie *Klebsiella pneumoniae* und *Klebsiella oxytoca* nicht aus Blutkultur zu Gruppen zusammengefaßt. Auch alle *Klebsiella pneumoniae* und *Klebsiella oxytoca* sind gemittelt worden.

Die Werte sind in folgenden Tabellen aufgeführt:

Tabelle 7: Absorptionsmittelwerte für den Fe-Cl₃-Test mit dem Überstand der ersten und der zweiten Kultur. Die Werte der zweiten Kultur werden in Klammern angegeben.

Stämme	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Anzahl der Stämme
Kl.pn. aus Blutkultur	0,035 (0,079)	0,023 (0,043)	33 (33)
Kl.pn. nicht aus Blutkultur	0,125	0,133	37
Kl.oxyt. aus Blutkultur	0,056 (0,104)	0,039 (0,052)	29 (29)
Kl.oxyt. nicht aus Blutkultur	0,047 (0,127)	0,018 (0,066)	12 (2)
alle Kl. pneumoniae	0,075	0,100	70
alle Kl. oxytoca	0,053	0,034	41

Tabelle 8: Absorptionsmittelwerte für den Hydroxamatnachweis mit dem Überstand der ersten und der zweiten Kultur. Die Werte der zweiten Kultur werden in Klammern angegeben.

Stämme	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Anzahl der Stämme
Kl.pn. aus Blutkultur	0,157 (0,137)	0,027 (0,050)	33 (33)
Kl.pn. nicht aus Blutkultur	0,245	0,056	37
Kl.oxyt. aus Blutkultur	0,152 (0,100)	0,030 (0,047)	29 (29)
Kl.oxyt. nicht aus Blutkultur	0,165 (0,165)	0,054 (0,011)	12 (2)
alle Kl.pneumoniae	0,198	0,059	70
alle Kl. oxytoca	0,155	0,038	41

Tabelle 9: Absorptionsmittelwerte für den Catecholnachweis mit dem Überstand der ersten und der zweiten Kultur. Die Werte der zweiten Kultur werden in Klammern angegeben.

Stämme	Absorptions- mittelwert	Standard- abweichung	Anzahl der Stämme
Kl.pn. aus Blutkultur	0,139 (0,198)	0,083 (0,114)	33 (33)
Kl.pn. nicht aus Blutkultur	0,275	0,116	37
Kl.oxyt. aus Blutkultur	0,251 (0,205)	0,064 (0,078)	29 (29)
Kl.oxyt. nicht aus Blutkultur	0,163 (0,139)	0,047 (0,007)	12 (2)
alle Kl.pneumoniae	0,211	0,122	70
alle Kl. oxytoca	0,225	0,071	41

IV. DISKUSSION

1. Stammauswahl

Die Auswahl der Stämme erfolgte nach folgenden Gesichtspunkten:

- Den häufig bei Blutkultur auftauchenden *Klebsiella oxytoca* K47 (Bakteriozintyp 3 8) wurden Blutkulturstämme mit anderem Kapsel- und Bakteriozintyp gegenübergestellt. Es standen dazu nur Stämme der Spezies *Klebsiella pneumoniae* zur Verfügung.
- Stämme aus Blutkultur wurden mit nicht aus Blutkultur isolierten Stämmen verglichen.

Es soll in dieser Arbeit die Hypothese geklärt werden, ob Blutkulturstämme und besonders die gehäuft auftretenden *Klebsiella oxytoca* K 47 -Stämme, die ja alle eine Sepsis verursacht haben, virulenter sind als Klebsiellen aus anderen Untersuchungsmaterialien.

Es soll hier geprüft werden, ob diese Virulenzunterschiede auf verschieden hoher Siderophorproduktion beruhen können. Natürlich bleiben dabei die individuelle Abwehr des Wirtes, die Kapsel, die Bakteriozine und vieles andere mehr als Virulenzfaktoren unberücksichtigt, doch die Einbeziehung dieser Faktoren ist im Rahmen dieser Untersuchung nicht möglich.

2. Siderophornachweise

2.1. Vergleichbarkeit der Absorptionen

Die Siderophornachweise basieren auf sichtbaren Farbveränderungen oder Absorptionsänderungen im UV-Bereich. Die Vergleichbarkeit der gemessenen Absorptionen innerhalb eines Tests ist aber nur gegeben, wenn immer die gleiche Substanz nachgewiesen wird. Im Fall des Hydroxamats, das bei *Klebsiella pneumoniae* und *Klebsi-*

ella oxytoca ziemlich sicher das Aerobactin ist, ist die Vergleichbarkeit also gewährleistet.

Als Catechol besitzen die beiden Klebsiellaspesies zwei chemisch nur sehr geringfügig verschiedene Substanzen. Der einzige Unterschied besteht in der Aminosäure der Dihydroxybenzoylverbindung. Klebsiella pneumoniae hat das Serin eingebaut, Klebsiella oxytoca das Threonin. Threonin weist im Gegensatz zu Serin nur eine zusätzliche CH_3 -Gruppe auf. Also kann man auch hier von gleichen Absorptionen ausgehen.

2.2. Aussagekraft der Nachweise

Die Siderophornachweise beruhen auf verschiedenen chemischen Prinzipien; daher sind sie sowohl von der Empfindlichkeit als auch von möglichen Fehlerquellen her unterschiedlich zu beurteilen.

2.2.1. Empfindlichkeit

Wie schon in III.2.4.1. erwähnt, ist der Perjodsäure-Test fünf Mal empfindlicher im Bezug auf Aerobactin als der FeCl_3 -Test. Der molare Extinktionskoeffizient für Aerobactin liegt im FeCl_3 -Test bei etwa 2×10^3 (6).

Über die Empfindlichkeit des Nachweises phenolischer Siderophore im Bezug auf Enterobactin sind in der vorliegenden Literatur keine Angaben zu finden, doch ist anhand der Absorptionen der positiven Kontrolle Catechol (siehe S.36) zu sagen, daß dieser Test mindestens millimolare Mengen an Enterobactin nachzuweisen vermag.

Quantitative Aussagen können nicht gemacht werden, da reines Enterochelin und Aerobactin als Kontrollsubstanzen nicht erhältlich sind.

2.2.2. Fehlerquellen im FeCl_3 -Test

Da im FeCl_3 -Test die niedrigsten Absorptionen gemessen werden, ist der resultierende Fehler prozentual größer, als in den anderen Nachweisen.

Außerdem wirken sich bei diesem Test, der auf einer Bindung von Eisen an das Siderophor beruht, Schwankungen des Eisengehaltes im Medium aus; folglich kann das Ergebnis aus den Messungen der ersten Kultur nicht mit dem der zweiten Kultur verglichen werden. Bei der ersten Kultur der Klebsiellen in M 56 wird noch relativ viel Eisen durch das Animpfen von der Frischblutplatte eingeschleppt; das heißt, beim FeCl_3 -Test kann nicht so viel Eisen an die teilweise schon gesättigten Siderophore binden. Bei der zweiten Passage in M 56 ist der Eisengehalt des Mediums schon geringer. Daraus folgt, daß mehr im Test zugegebenes Eisen binden kann. Dies wird bestätigt, wenn man den Mittelwert aller Absorptionen aus der ersten Kultur von 0,070 mit dem der zweiten Kultur vergleicht, der 0,090 beträgt.

Erhöhte Absorptionen sind also bei diesem Test nicht unbedingt erhöhten Siderophorkonzentrationen zuzuschreiben.

Diese Fehlerquelle besteht bei den anderen Nachweisen nicht, da sie auf spezifischen chemischen Reaktionen der zugegebenen Reagenzien mit den Siderophoren beruhen.

2.3. Korrelation der Nachweise

Der Korrelationskoeffizient r für die Absorptionen des FeCl_3 -Tests und die des Hydroxamatnachweises beträgt 0,41104 ($p = 0,0001$), das heißt, es besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen den beiden Nachweisen. Auch die Korrelation des Hydroxamatnachweises mit dem Catecholnachweis ($r = 0,54909$) ist signifikant ($p = 0,0001$). Zwischen Catecholnachweis und FeCl_3 -Test besteht statistisch kein Zusammenhang.

Praktisch bedeutet das, daß im FeCl_3 -Test kaum Enterochelin,

dafür aber Aerobactin nachgewiesen wird. Dies ist leicht erklärbar, denn Enterochelin mit der höheren Eisenaffinität liegt schon in Medium mit geringem Eisengehalt als Metallkomplex vor und ist dann mit diesem Test nicht mehr zu erfassen.

Außerdem kann festgestellt werden: Hohe Hydroxamatwerte haben meist auch hohe Catecholwerte zur Folge und umgekehrt.

3. Konstanz der Siderophorproduktion bei den einzelnen Stämmen

Im allgemeinen kann von einer charakteristischen Siderophorproduktion eines Stammes bei definierten Kulturbedingungen ausgegangen werden. Bei fakultativ anaeroben Bakterien, wie die Klebsiellen, kann jedoch die Kohlenstoffquelle des Mediums Ursache ziemlicher Schwankungen sein (14). Glukose wird von Klebsiellen sowohl aerob zu CO_2 als auch anaerob zu Milchsäure abgebaut. Falls der aerobe Stoffwechselweg beschritten wird, muß Eisen für die Enzyme der Atmungskette, die Cytochrome zur Verfügung stehen, und damit werden in Medium mit geringem Eisengehalt auch Siderophore gebraucht.

Mit Bernsteinsäure als Kohlenstoffquelle könnte man dieses Problem umgehen, da sie auf alle Fälle im Citratzyklus aerob abgebaut werden muß, doch leider zeigten die Klebsiellen in Medium M 56 mit diesem Substrat kein ausreichendes Wachstum.

4. Ergebnisse der Messungen

4.1. Vergleich der ersten Kultur mit der zweiten Kultur

Wie schon in 2.2.2. erwähnt, scheint im FeCl_3 -Test die Siderophorproduktion in der zweiten Kultur erhöht. Der Hydroxamat- und der Catecholnachweis zeigen aber die wirklichen Verhältnisse. Die

Aerobactinproduktion sinkt von einer mittleren Absorption von 0,180 in der ersten Kultur auf eine mittlere Absorption von 0,120 in der zweiten Kultur. Die Enterochelinproduktion fällt zwar von einer mittleren Absorption von 0,220 nur auf 0,200, doch ist auch hier die Tendenz bestätigt.

Wegen des geringeren Eisenangebotes in der zweiten Kultur wäre eigentlich eher eine reaktive Steigerung der Siderophorproduktion zu erwarten, doch wirkt sich hier anscheinend schon ein Mangel an Nährstoffen in dem Minimalmedium aus, der sich zwar noch nicht in der Enddichte der Bakterien, wohl aber in der Wachstumsgeschwindigkeit und Siderophorproduktion zeigt.

Eine zweite Passage der Klebsiellen bringt also keine Vorteile bei der Untersuchung der Siderophorproduktion und wurde deshalb auch bei Stämmen, die nicht aus Blutkultur waren, unterlassen.

4.2. Vergleich der Stämme aus Blutkultur mit den Stämmen aus anderen Untersuchungsmaterialien

Angenommen, Stämme von septikämischen Patienten sind virulenter als andere, so könnten diese Stämme auch höhere Siderophorproduktion aufweisen, als nicht aus Blut isolierte Klebsiellen. Die Werte aus Tabelle 7,8 und 9 zeigen jedoch, daß die Blutkulturstämmen in allen Tests niedrigere Absorptionen haben, als die nicht aus Blut isolierten Stämme.

Innerhalb der Gruppen (siehe III.2.3., S.46 f) stellen nur die Klebsiella oxytoca aus Blutkultur eine Ausnahme. Sie bilden mehr Enterochelin als die anderen Klebsiella oxytoca-Stämme und fast gleich viel Aerobactin (siehe Tabelle 8 und 9). Dieser Unterschied in der Catecholbildung (Absorption Klebsiella oxytoca aus Blutkultur = 0,251, Absorption Klebsiella oxytoca nicht aus Blutkultur = 0,163) ist signifikant.

4.3. Zusammenhang zwischen Bakteriozintyp und Siderophorproduktion

Die Zugehörigkeit eines Stammes zu einem gewissen Bakteriozintyp liefert keine Anhaltspunkte für eine besonders hohe Siderophorproduktion. Auffällig ist zwar, daß besonders viele *Klebsiella oxytoca* Bakteriozintyp 3 8 aus Blut isoliert wurden, doch sie zeigen den *Klebsiella oxytoca* aus Blutkultur mit anderem Bakteriozintyp gegenüber keine signifikante Abweichung in der Absorption.

Nichtsdestoweniger bleibt die Bestimmung des Bakteriozintyps ein wichtiges Mittel zur Differenzierung von *Klebsiellen* (2) und eine Beziehung zu Siderophoren kann nicht ausgeschlossen werden.

4.4. Zusammenhang zwischen Kapseltyp und Siderophorproduktion

Ein Zusammenhang zwischen Kapseltyp und Höhe der Siderophorproduktion ist in dieser Arbeit nicht zu erkennen, doch kann die Beschaffenheit der Kapsel Auswirkungen auf die Fähigkeit eines Bakteriums, seine Siderophore nutzbringend einzusetzen, haben. Wie schon in der Einleitung erwähnt, scheint besonders das zellwandgebundene Enterochelin gemeinsam mit dem LPS die Vitalisierung virulenter Bakterien in eisenarmer Umgebung zu fördern (14).

Die Kapsel könnte die Siderophore beziehungsweise deren Rezeptoren an der äußeren Membran gegen die humorale Abwehr abschirmen und so das Bakterienwachstum in eisenarmer Umgebung ermöglichen. Hinweise darauf gibt die Beobachtung von Kadurugamuwa u. a. (13), die feststellten, daß bei subinhibitorischen Cephalosporinkonzentrationen die Kapselbildung und die Enterochelinproduktion deutlich vermindert sind. Damit ist die Vermehrungsfähigkeit der Bakterien in Eisenmangelsituationen gestört.

Auch Field u.a. (8) haben eine Veränderung der äußeren Membran und eine Zunahme der Siderophorproduktion bei Eisenmangel beobachtet. Diese veränderten Membranproteine könnten als

"Schlüsselantigendeterminante" für die Körperabwehr dienen(14)
und durch die Kapsel aber vor der Erkennung geschützt werden.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Arbeit war, mögliche Zusammenhänge zwischen Virulenz und Siderophorproduktion von *Klebsiella oxytoca* und *Klebsiella pneumoniae* zu untersuchen. Siderophore sind eisenbindende Substanzen und treten bei Klebsiellen in Form von Hydroxamaten (Aerobactin) und Catecholen (Enterobactin, synonym Enterochelin) auf. Bei 112 Stämmen wurde die Siderophorproduktion mit Hilfe photometrischer Nachweismethoden analysiert. Als Ergebnis zeigte sich folgendes:

- 1.) Bei allen Stämmen treten Siderophore auf. Meist produzieren Klebsiellen auch Siderophore beider Gruppen, das heißt sowohl Hydroxamate als auch Catechole.
- 2.) Stämme aus Blutkultur zeigen im allgemeinen eine geringere Siderophorproduktion als Klebsiellen aus anderen Untersuchungsmaterialien.
- 3.) Eine Ausnahme stellt ein bei septikämischen Patienten besonders häufig auftretender Typ von *Klebsiella oxytoca* dar. Isolate dieses Typs produzierten deutlich mehr Enterobactin als andere *Klebsiella oxytoca* - Stämme. Sie können dadurch besonders gut in "eisenarmer" Umgebung, wie Blut wachsen, worauf ihre erhöhte Virulenz zumindest teilweise zurückführbar sein könnte.

VII. SUMMARY

SIDEROPHORES OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* AND *KLEBSIELLA OXYTOCA* AND THEIR IMPACT ON VIRULENCE

The objective of this thesis was to investigate the relationship between virulence and the production of siderophores from *Klebsiella oxytoca* and *Klebsiella pneumoniae*. Siderophores are iron binding substances which are produced from *Klebsiella* in the form of hydroxamates (aerobactin) and catechols (enterobactin, synonymous with enterochelin). Photometric tests were used to examine the siderophore production of 111 strains. The results suggest that:

1. All strains produced siderophores. Most of them produced hydroxamates and catechols.
2. Strains from bloodcultures generally showed a lower siderophore production than *Klebsiella* from other examined materials.
3. One type of *Klebsiella oxytoca* which was frequently isolated from septic patients proved to be an exception. Strains of this type definitely produce more enterobactin than other *Klebsiella oxytoca* strains. They can therefore grow extremely well in "low iron milieu" (blood). This could be one of the reasons for their increased virulence.

VII. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- (1) **Arnow L.E.** (1937)
Colorimetric determination of the components of 3,4 dihydroxyphenylalanine-tyrosine mixtures
J. Biol. Chem. **118**, 531-537
- (2) **Bauernfeind A., Petermüller C., and Schneider R.** (1981)
Bacteriocins as tools in analysis of nosocomial Klebsiella pneumoniae infections
J. Clin. Microbiol. **14**, 15-19
- (3) **Bauernfeind A., Wittmann D.H.** (1983)
Erregerspezifische Pathogenitätsfaktoren der Mikroflora bei Peritonitiden
FAC Fortschr. antimikr. antineoplast. Chemother. **2-3**, 431-436
- (4) **Bullen J.J.** (1981)
The significance of iron in infection
Rev. Infect. Dis. **3**, 1127-1138
- (5) **Crosa J.H.** (1984)
The relationship of plasmid-mediated iron transport and bacterial virulence
Annu. Rev. Microbiol. **38**, 69-89
- (6) **Emery T. and Neilands J.B.** (1960)
Periodate oxidation of hydroxylamine derivates. Products, scope and application.
J. Am. Chem. Soc. **82**, 4903-4904
- (7) **Emery T. and Neilands J.B.** (1962)
Further observations concerning the periodic acid oxidation

of hydroxylamine derivatives
J. Org. Chem. **27**, 1075-1077

- (8) **Field L.H., Headley V.L., Payne S.M., and Berry L.J.** (1986)
Influence of iron on growth, morphology, outer membrane protein composition, and synthesis of siderophores in *Campylobacter jejuni*
Infect. Immun. **54**, 126-132
- (9) **Gibson F. and Magrath D.I.** (1969)
The isolation and characterisation of a hydroxamic acid (aerobactin) formed by *Aerobacter aerogenes* 62-1
Biochim. Biophys. Acta **192**, 175-184
- (10) **Hider R.C.** (1984)
Siderophore mediated absorption of iron
Structure and Bonding **58**, 25-88
- (11) **Holzberg M., Artis W.M.** (1983)
Hydroxamate siderophore production by opportunistic and systemic fungal pathogens
Infect. Immun. **40**, 1134-1139
- (12) **Ito T. and Neilands J.B.** (1958)
Products of "low-iron fermentation" with *Bacillus subtilis*: isolation, characterisation and synthesis of 2,3-dihydroxybenzoylglycine
J. Am. Chem. Soc. **80**, 4645-4647
- (13) **Kadurugamuwa J.L., Anwar H., Brown M.R.W., and Zak O.** (1985)
Effect of subinhibitory concentrations of cephalosporins on surface properties and siderophore production in iron-depleted *Klebsiella pneumoniae*
Antimicrob. Agents Chemother. **27**, 220-223

- (14) **Kochan I., Kvach J.T., and Wiles T.I.** (1977)
Virulence-associated acquisition of iron in mammalian serum
by *Escherichia coli*
J. Infect. Dis. **135**, 623-632
- (15) **Lankford C.E.** (1973)
Bacterial assimilation of iron
Crit. Rev. Microbiol. **2**, 273-331
- (16) **Miles A.A., Khimji P.L. and Maskell J.** (1979)
The variable response of bacteria to excess iron in host
tissues
J. Med. Microbiol. **12**, 17-28
- (17) **Monod J., Cohen-Bazire G. and Cohn M.** (1951)
Sur la biosynthese de la β -galactosidase (lactase) chez
Escherichia coli. La spécificité de l'induction.
Biochim. Biophys. Acta **7**, 585-599
- (18) **Nassif X. and Sansonetti P.J.** (1986)
Correlation of the virulence of *Klebsiella pneumoniae* K1 and
K2 with the presence of a plasmid encoding aerobactin
Infect. Immun. **54**, 603-608
- (19) **Neilands J.B.** (1981)
Microbial iron compounds
Ann. Rev. Biochem. **50**, 715-731
- (20) **Neilands J.B.** (1984)
Methodology of siderophores
Structure and Bonding **58**, 1-24
- (21) **O'Brien I.G., Cox G.B., Gibson F.** (1970)
Biologically active compounds containing 2,3 dihydroxyben-
zoic acid and serine formed by *Escherichia coli*

- (22) **O'Brien I.G. and Gibson F.** (1970)
The structure of enterochelin and related 2,3-dihydroxy-N-benzoylserine conjugates from *Escherichia coli*
Biochim. Biophys. Acta 215, 393-402
- (23) **O'Callaghan R.J., Rousset K.M., Harkess N.K.** (1978)
Analysis of increasing antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* relative to changes in chemotherapy
J. Infect. Dis. 138, 293-298
- (24) **Payne S.M.** (1981)
Synthesis and utilization of siderophores by *Shigella flexneri*
J. Bacteriol. 143, 1420-1424
- (25) **Rosenthal E.J.K.** (1986)
Septikämie-Erreger 1983-1985
Ergebnisse einer multizentrischen Studie
Dtsch. med. Wschr. 111, 1874-1880
- (26) **Simoons-Smit A.M., Verweij-van Vught A.M.J.J., and Maclaren D.M.** (1986)
The role of K antigens as virulence factors in *Klebsiella*
J. Med. Microbiol. 21, 133-137
- (27) **Snow G.A.** (1970)
Mycobactins: iron-chelating growth-factors from mycobacteria
Bacteriol. Rev. 34, 99-125
- (28) **Verweij-van Vught A.M.J.J., Sparrius M., Navamar F., Vel W.A.C. and Mac Laren D.M.** (1986)
Nutritional requirements of *Bacteroides fragilis* and *Bacteroides vulgatus* with reference to iron and virulence

- (29) Warner P.J., Williams P.H., Bindereif A., and Neillands J.B.
(1981)
ColV plasmid-specified aerobactin synthesis by invasive strains of *Escherichia coli*
Infect. Immun. 33, 540-545
- (30) Weinberg E.D. (1978)
Iron and Infection
Microbiol. Rev. 42, 45-66
- (31) Williams P.H. (1979)
Novel iron uptake system specified by ColV plasmids: an important component in the virulence of invasive strains of *Escherichia coli*
Infect. Immun. 26, 925-932
- (32) Williams P., Lambert P.A., Brown M.R.W., and Jones R.J.
(1983)
The role of the O and K antigens in determining the resistance of *Klebsiella aerogenes* to serum killing and phagocytosis
J. Gen. Microbiol. 129, 2181-2191
- (33) Yancey J.R., Breeding S.A.L. and Lankford C.E. (1979)
Enterochelin (Enterobactin): Virulence factor for *Salmonella typhimurium*
Infect. Immun. 24, 174-190

Herrn Prof. Dr. A. Bauernfeind danke ich für die Überlassung des Themas, die Unterstützung und die gebotenen Möglichkeiten zur Durchführung der Arbeit.

Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. mult. A. Mayr für die Vorlage der Doktorarbeit an der Tiermedizinischen Fakultät.

Mein Dank gilt ferner den medizinisch-technischen Assistentinnen des Labors von Herrn Prof. Bauernfeind, Herrn Prof. Dr. Osterkorn und Herrn Dr. Stanglmeier vom Lehrstuhl für Biometrie an der Tiermedizinischen Fakultät, die mir bei praktischen Arbeiten b.z.w. bei der Auswertung der Ergebnisse behilflich waren.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Max Lechner für seine wertvollen Hinweise für die Arbeit.

LEBENS LAUF

Petra Brigitte Geiger

Geburtsdatum:	15.1.1961
Geburtsort:	Augsburg
Eltern:	Rita Geiger, technische Zeichnerin Friedrich Geiger, Maschinenbauingenieur
1967 - 1971	Besuch der Grundschule in Todtenweis, Landkreis Aichach-Friedberg
1971 - 1980	Besuch des Maria-Theresia-Gymnasiums Augsburg
1980	Allgemeine Hochschulreife
1980 -1986 .	Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
13.2.1986	Abschluß des Studiums mit dem III. Abschnitt der Tierärztlichen Prüfung
4.6.1986	Approbation als Tierärztin

